

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Química Inorgánica y Bioniorgánica



**DETERMINACIÓN DE MERCURIO COMO
CONTAMINANTE LABORAL**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

José Luis López Colón

Bajo la dirección de los Doctores:

Rafael Lozano Fernández
María Dolores Veiga Ochoa

Madrid, 2003

ISBN: 84-669-2052-8



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Farmacia

Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica

DETERMINACIÓN DE MERCURIO COMO CONTAMINANTE LABORAL

José Luis López Colón



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Farmacia

Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica

DETERMINACIÓN DE MERCURIO COMO CONTAMINANTE LABORAL

Memoria que para optar al Grado de Doctor en Farmacia presenta

José Luis López Colón

Madrid, Mayo 2.003



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA

Rafael Lozano Fernández, Profesor Titular del Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica y M^a Dolores Veiga Ochoa, Profesora Titular del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid,

CERTIFICAN: que el presente Trabajo titulado “Determinación de Mercurio como contaminante laboral”, llevado a cabo por D. JOSÉ LUIS LÓPEZ COLÓN ha sido realizado bajo nuestra dirección.

El mencionado trabajo reúne las condiciones y características necesarias para ser defendido ante el Tribunal oportuno para la obtención del grado de Doctor.

Y para que conste donde proceda, firmamos el presente certificado en Madrid a veinte de mayo de dos mil tres.

Fdo.: Los directores
Dra. Dña. M^a Dolores Veiga Ochoa

Dr. D. Rafael Lozano Fernández

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al profesor y director de la presente Tesis Dr. D. Rafael Lozano Fernández, sin cuyo apoyo, interés y trabajo hubiera sido imposible la realización de la misma.

También deseo agradecer el apoyo prestado por la profesora y directora del presente trabajo Dra. D^a M^a Dolores Veiga Ochoa, que tanto me ayudó en los momentos de desánimo.

Quisiera agradecer también la ayuda prestada, desde el principio, por la profesora Dra. D^a Esther Parrondo Iglesias, que para mi ha sido fundamental.

Un especial agradecimiento al Dr. D. Arturo Montel Ruiz de Alda, Jefe del Servicio de Toxicología del Instituto de Medicina Preventiva de la Defensa, por su continuo apoyo y ánimo.

A Dr. D. José Granell y Dr. D. José María Gervas, Directores del Instituto de Medicina Preventiva de la Defensa donde se ha realizado la mayor parte experimental de este trabajo, y a la Catedrática y Directora del Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica de la Facultad de Farmacia Dra. D^a María Vallet Regí.

A todos mis compañeros del Instituto de Medicina Preventiva de la Defensa, por su gran ayuda y ánimo.

Y, por último, a la profesora Dra. D^a Irene Iglesias Peinado por su comprensión y simpatía.

A mis hijos Diana y Miguel que tanto me han soportado.

A mi hijo José Luis que no pudo llegar a verla.

ÍNDICE

ÍNDICE

ÍNDICE	I
OBJETIVOS	V
PARTE GENERAL	1
I.- ELEMENTOS TRAZA	1
II.- TÉCNICAS ANALÍTICAS	13
III.- MERCURIO	55
IV.- CADMIO	147
V.- COBRE	159
VI.- PLOMO	171
VII.- SELENIO	185
VIII.- ZINC	201
MATERIAL Y MÉTODOS	212
RESULTADOS	250
I.- MERCURIO	251
II.- EXPOSICIÓN AL MERCURIO EN LOS DISTINTOS GRUPOS	267
III.- CADMIO	277
IV.- COBRE	287
V.- PLOMO	297
VI.- SELENIO	309
VII.- ZINC	317
VIII.- RELACIONES ENTRE ELEMENTOS TRAZA	331
IX.- PERSONAL EXPUESTO AL MERCURIO	339

DISCUSIÓN	345
I.- MERCURIO	347
II.- EXPOSICIÓN AL MERCURIO	355
III.- CADMIO	361
IV.- COBRE	365
V.- PLOMO	369
VI.- SELENIO	373
VII.- ZINC	379
VIII.- RELACIONES ENTRE ELEMENTOS TRAZA	385
 CONCLUSIONES	 393
 BIBLIOGRAFÍA	 399
 ANEXOS	 433
ANEXO I.- CONVERSIONES	435
ANEXO II.- ABREVIATURAS	437

OBJETIVOS

OBJETIVOS

El ser humano puede estar expuesto a compuestos orgánicos e inorgánicos a partir de diferentes fuentes de exposición. La población general se encuentra principalmente expuesta al mercurio a partir de la dieta y las amalgamas dentales. Aunque la ingestión media diaria de mercurio procedente de las amalgamas dentales es pequeña, hay una considerable variación de unos individuos a otros, de tal manera que hay ciertas personas con una ingesta elevada procedente de los empastes de amalgama. Dependiendo de la concentración en agua y aire, la contribución a la ingesta diaria puede llegar a ser importante.

La determinación de mercurio en varias matrices biológicas, particularmente en sangre, orina y pelo, es importante para la valoración de la contaminación medioambiental y la del ambiente de trabajo. La monitorización biológica se ha convertido en una importante herramienta en la medicina ocupacional y en la medioambiental para la valoración del nivel de exposición interna a sustancias tóxicas procedentes del medioambiente. La monitorización biológica se utiliza para valorar la exposición, dosis absorbida, nivel en el organismo o en un órgano crítico, o el riesgo de efectos adversos.

La volatilidad y fácil absorción dérmica del metal y la mayor parte de los compuestos de mercurio, le convierten en un tóxico difícil de controlar, por lo que es necesario que, además de aplicar medidas de higiene industrial estrictas, se hagan frecuentes controles biológicos de exposición, midiendo sus niveles en orina y/o sangre, por lo que se propone desarrollar un método para la determinación de mercurio total en sangre y orina que sea sencillo y apropiado para el análisis de rutina.

Por otra parte, la interacción entre el mercurio y otros elementos, en particular el selenio, ya sea en el tracto gastrointestinal, por proteínas que afectan a la absorción, como por la común afinidad por la metalotioneína, ha sido de gran interés en las últimas décadas. El mercurio no sólo se une a la metalotioneína (230) (574), sino que, además, estimula su síntesis (83) (259) (215). Así, en estudios a corto plazo en animales, el cloruro de mercurio incrementa los niveles de Cu y Zn en riñón (447). Chapman y Chan indican que una adecuada ingesta de selenio y zinc puede retrasar la toxicidad provocada por el metilmercurio (79). Interrelaciones entre distintos elementos traza que, por ejemplo, se ponen de evidencia al comprobar que la deficiencia de Zn, además de incrementar la absorción de plomo, origina que exista un intercambio del catión esencial por plomo en moléculas bioquímicamente activas, como, por ejemplo, receptores en el cerebro y ciertos enzimas (178) (179).

Por lo tanto, se propone estudiar las correlaciones existentes entre el mercurio y distintos elementos traza, así como el efecto del consumo de pescado, el hábito de fumar o el número de empastes de amalgama de mercurio en la concentración del mismo.

Siendo los auxiliares de odontología, los dentistas, los trabajadores de laboratorios que trabajen con mercurio y los trabajadores de clorocaústicas, grupos de trabajadores expuestos a mercurio elemental, se propone el estudio en los mismos de mercurio y elementos traza relacionados frente a un grupo de personas no expuestas laboralmente, que denominaremos grupo Control.

PARTE GENERAL

I.- ELEMENTOS TRAZA

El cuerpo humano contiene, y puede incorporar cantidades muy pequeñas de la mayoría de los elementos de la Tabla Periódica. Muchos de ellos son esenciales para la vida y se conocen bien sus funciones (Fe, Zn, F y Cu). En otros casos, y como resultado de la aplicación de nuevas tecnologías, se han podido establecer funciones fisiológicas de metales que se suponían exclusivamente tóxicos (Pb, As o Se) y en algunos casos determinar su esencialidad para la vida (513).

Antes del siglo XIX sólo se tenían algunas ideas confusas sobre la naturaleza, el origen y las funciones de los componentes minerales de la materia viva. El primer experimento conocido que demostró claramente la importancia nutritiva de los minerales lo realizó en Inglaterra Fordyce en 1791, quien puso de manifiesto que la alimentación de canarios con una dieta de semillas, como único alimento, requería un suplemento de “tierra calcárea” para mantenerlos sanos y producir huevos (144).

La IUPAC define como elemento traza aquél cuyo contenido en suero o plasma es inferior a 100 mg/L o 100 partes por millón (ppm), con lo que el hierro representa el límite de separación (144). Según Schroeder y Nason, un elemento traza es aquel que representa menos del 0,01% de la masa corporal (464).

Actualmente, se ha ampliado el número de elementos traza y se ha establecido una diferenciación según su concentración en el organismo. Se han clasificado en 2 grupos:

- Elementos traza o aquellos que su concentración está en rango de partes por millón (ppm) o $\mu\text{g/mL}$.

- Elementos ultratraza, presentes en el organismo en rango de partes por billón (ppb) o $\mu\text{g/L}$ (Tabla I). (513) o aquellos cuya concentración sea inferior a 10 ng/g o 10 $\mu\text{g/L}$ (102).

Otros autores estiman como elementos ultratraza, a aquellos cuyos requerimientos dietéticos son menores de 1 $\mu\text{g/g}$ (513).

Para los elementos esenciales, aquellos para los cuales una deficiencia provoca una alteración patológica, el Food and Nutrition Board marca unos Aportes Dietéticos Recomendados (ADR) para satisfacer las necesidades de la práctica totalidad de las personas sanas (144).

1.- EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN

La vía de introducción desempeña un papel muy importante en la determinación de la toxicidad de un elemento (44). Las principales vías por las que un elemento puede entrar en el organismo son: la inhalatoria, la dérmica, la digestiva, la hemodiálisis, las prótesis metálicas, la transferencia placentaria y la leche materna (44). La vía inhalatoria se produce por contaminación atmosférica o por exposición laboral (44), por lo que se elaboran listas de niveles ambientales admisibles. La lista de más amplia aceptación en los países occidentales es la publicada por la "American Conference of Governmental Industrial Hygienists" (ACGIH) de los EE.UU. que se denomina "Threshold Limit Values" (TLV), o sea, Valores límites umbral (220). Algunos elementos tienen compuestos capaces de absorberse por vía dérmica, regulándose en ese caso tal circunstancia en las listas.

Los metales no sufren metabolizaciones, por lo que su concentración en sangre u orina constituye generalmente un indicador muy válido de exposición presente o pasada. (221). Presentan una vida biológica media (permanencia en el organismo antes de su eliminación) mayoritariamente larga, por lo que:

- Suelen admitir un control biológico.
- La concentración del metal en sangre suele constituir un parámetro bien correlacionado con la exposición total al metal (puesto que permanece en el medio interno lo suficiente para indicar cuánto contaminante ha sido absorbido por diferentes vías).
- La concentración del metal en orina suele indicar la carga corporal, producto de las exposiciones a lo largo del tiempo (y que es lentamente eliminado) (221).

Para apreciar si la exposición a una sustancia química en el trabajo significa un riesgo para la salud se emplean dos sistemas complementarios (269):

- Análisis del aire ambiental en la zona de trabajo. Para las sustancias que entran en el organismo por inhalación se puede establecer una concentración admisible en el aire, es decir, una concentración que no constituye un riesgo inaceptable para la salud de los trabajadores expuestos.
- Análisis de los indicadores biológicos de exposición en los trabajadores expuestos, con el fin de detectar la sustancia absorbida o descubrir los efectos precoces relacionados con la dosis interna del tóxico. Este sistema está basado en los conocimientos sobre el metabolismo y el mecanismo de acción de las sustancias. Este método tiene en cuenta la absorción por otras rutas de exposición distintas de la inhalatoria, reflejando mejor la exposición total y permite descubrir a sujetos hipersensibles.

La vigilancia biológica de la exposición sólo tiene valor práctico cuando se conoce la relación entre exposición externa, dosis interna y efectos tóxicos (269).

2.- TOMA DE MUESTRAS. ESPECÍMENES

Puesto que las concentraciones que se miden en las muestras biológicas son muy pequeñas y muchas veces la concentración de los mismos elementos en la corteza terrestre se encuentra en niveles de concentración similares, el análisis de los elementos traza y ultratrazas requiere unas condiciones muy cuidadosas de obtención y manipulación, sobre todo en los considerados ultratrazas (Mn, Co, Cr, Ni, V) cuya determinación no debe considerarse de rutina (176).

De manera ideal, la sala donde se realice la extracción debe estar especialmente limpia y destinada a este fin (176).

Se debe tener en cuenta que algunos elementos (Zn, Cu y el Fe) presentan un ritmo circadiano, estando más elevados por las mañanas, disminuyendo a lo largo del día para alcanzar sus concentraciones más bajas en las últimas horas de la tarde o de la noche (176). Además, el zinc presenta fluctuaciones postprandiales, disminuyendo sus concentraciones tras las comidas (176). Por lo tanto, conviene estandarizar lo más posible la hora de obtención de los especímenes (176).

La manera óptima de realizar la extracción consiste en emplear jeringas de plástico (polipropileno) y agujas de titanio, níquel o acero inoxidable, aunque para los elementos ultratrazas, principalmente cromo, níquel, cobalto y manganeso, las agujas deben estar recubiertas en su interior de silicona, sin tener ningún componente de goma (176) o la utilización de una cánula intravenosa de polipropileno (101). Los elementos que más se afectan por el contacto con el tapón son el aluminio, el cromo, el manganeso y el selenio (176). Se deben evitar tapones dopados con zinc para la determinación de este elemento (101). Si se utilizan tubos de vacío para extraer la sangre, se recomienda utilizar los tubos de elementos traza en último lugar (176).

Los tubos para la extracción de sangre libres de contaminaciones por elementos traza, como afirman los fabricantes, no existen (101). Debe valorarse la contribución del tubo de extracción por medio de la valoración de un espécimen de concentración baja certificada, considerándose despreciable la contaminación que no implique una desviación en el valor obtenido del valor certificado (101). Otra opción es la utilización de una solución ácida débil en contacto con el material a analizar (101). Utilizando una solución 0,05M de HNO₃, se analizaron tubos para extracción de sangre para elementos traza sin aditivos y con heparina sódica, normales de heparina sódica de las marcas “venoject” y “vacutainer”, así como tubos para análisis hematológico, con EDTA K₃ y para separación de suero con gel separador de la marca “venoject”, encontrándose los valores de la Tabla I.1 (432). Se observa que la contaminación de los diferentes tubos de extracción son despreciables en comparación con los valores considerados normales.

Tabla I.1.- Aporte de los distintos elementos traza al espécimen de sangre o suero en µg/L.de las marcas (a) Vacutainer (b) Venoject.. Tomado de Rodushkin y Odman en 2001 (432).

	Elementos Traza (a)	Elementos Traza (b)	Elementos traza Heparina Na (a)	Elementos Traza Heparina Na (b)	Normal Heparina Na (a)	Normal Heparina Na (a)	EDTA K ₃ (b)	Suero con gel separador (b)
Cd	0,0034	0,0066	0,0048	0,0056	0,0011	0,0025	0,002	0,0045
			<i>Intervalo de referencia: 0-5 µg/L</i>					
Cu	0,21	0,2	0,32	0,61	0,38	1,3	9,5	1,4
			<i>Intervalo de referencia: 700-1400 µg/L</i>					
Hg	<LD	<LD	0,0025	<LD	0,051	0,0041	<LD	0,0053
			<i>Intervalo de referencia: 0-20 µg/L</i>					
Pb	0,54	0,21	0,62	0,22	0,83	0,37	0,53	0,33
			<i>Intervalo de referencia: 0-200 µg/L</i>					
Zn	1,5	1,1	2,8	2,2	6,8	1,7	7	2,9
			<i>Intervalo de referencia: 750-1200 µg/L</i>					

Aunque la más frecuente alteración del espécimen procede de la contaminación, algunos elementos (Pb, Zn y Cu) tienden a adsorberse sobre la superficie de los recipientes que los contienen, especialmente el vidrio, por lo que se recomienda la utilización de envases de polipropileno (176) u otro material de plástico (101). Para evitar la contaminación de las muestras de orina se recomienda el uso de envases de polietileno libres de metales (381) (101). Para algunos elementos se deben de tener precauciones especiales, como evitar los recipientes de cristal o plásticos con cadmio en su composición, para la determinación de aluminio y cadmio, respectivamente (101).

Los anticoagulantes más adecuados son la heparina y el EDTA. El EDTA es el anticoagulante más adecuado cuando los especímenes han de transportarse a un laboratorio distante y van a tardar más de 36 horas en llegar, aunque por la facilidad de formar quelatos, supone una mayor probabilidad de contaminación durante la fabricación (176). En general, la contaminación procedente del anticoagulante debe ser evaluada para cada elemento (101). Para evitar el anticoagulante se suele preferir las muestras de suero en vez de las de plasma (101).

La hemólisis debe evitarse especialmente en el análisis de los elementos en los que la concentración eritrocitaria es, al menos, diez veces superior a la sérica, como es el caso del hierro, el zinc y el, manganeso (176) (101).

La orina se utiliza principalmente en el estudio de intoxicaciones, movilización de depósitos y balance de elementos (176). Se recomienda una escrupulosa higiene personal y obtener la orina lejos del lugar donde se sospeche que está el origen de la intoxicación (176). El peligro de contaminación de la orina es mayor que el de la sangre (176), especialmente en orina de 24 horas (101).

La muestras de pelos y uñas se utilizan principalmente como reflejo de déficit nutricional o para estudiar exposiciones a tóxicos durante periodos prolongados, aunque estos especímenes son susceptibles de contaminación ambiental (y cosmética) por lo que han de considerarse de dudoso valor (176). Para minimizar la contaminación externa se deben tomar los cabellos lo más cerca del cuero cabelludo (569). Wilhelm et al, recomiendan, para no introducir nuevos factores de error, no someter los cabellos a un proceso de limpieza excepto para la determinación de aluminio (569). La toma de muestra puede realizarse de un único cabello, que requiere la determinación de la fase de crecimiento (observando la raíz al microscopio) del mismo y un método muy sensible, o de un mechón. La mayor parte de los métodos necesitan, al menos 1 mg y, normalmente, 10 mg de muestra. La variación del contenido de mercurio, dentro de un mismo individuo, debida a la toma de muestra, se encuentra dentro de un 10% (383).

La decantación debe realizarse rápidamente tras la centrifugación para reducir el tiempo de contacto con el tubo de extracción o la posibilidad de liberación de elementos desde los hematíes (176).

Como norma general, las muestras biológicas se conservan adecuadamente a 4°C durante cinco días y a -20°C durante, al menos, un mes (176), aunque no se han observado pérdidas significativas de Co, Cu, Mn, Se, Zn, Br, Ca, Cl, Cr, Cs, I, K, Na y Rb en muestras de orina a temperatura ambiente durante tres días (101).

Para reducir la posibilidad de contaminación, se deben utilizar habitaciones con flujo laminar y presión positiva para la realización de los análisis y la preparación de las muestras (176).

El personal de laboratorio de elementos traza debe evitar el uso de prendas de vestir de algodón, cosméticos y adornos metálicos (176).

Cuanto menos se manipule un espécimen biológico y menos procesos previos a análisis sufra, menor será la probabilidad de que se contamine (176).

3.- INTERACCIONES ENTRE ELEMENTOS TRAZA

Existe un creciente interés en la determinación de elementos traza esenciales o tóxicos en especímenes biológicos por su relación con la salud, la nutrición y la toxicología (430). Los metales pesados alteran el metabolismo y las funciones de ciertos elementos traza como el hierro, el cobre y el zinc, al competir por los mismos ligandos en ciertos sistemas biológicos (1) (499). Por otra parte, se indica al estado nutricional como modificador del metabolismo y la toxicidad de los metales pesados (389). De hecho, estudios en animales demuestran que ciertos elementos esenciales, como el zinc, el hierro, el selenio y el cobre, especialmente a elevadas concentraciones, pueden interactuar con los efectos del plomo y otros metales (327). Así, las tasas elevadas de plomo producen el desplazamiento del cobre y zinc de los tejidos (484).

Uno de los mecanismos por los cuales se produce una interacción entre elementos traza es la competición, en el tracto gastrointestinal, por proteínas que afectan a la absorción. Así, la velocidad de absorción de cadmio está aumentada cuando existe deficiencia de ciertos elementos con un mecanismo de transporte común (455), los suplementos de Zn que superan en 10 veces a los ingresos diarios recomendados (15 a 20 mg/día) producen un déficit condicionado de cobre acompañado de anemia (146), o las dietas pobres en selenio o zinc pueden dar lugar a una mayor absorción de plomo (380). Se considera que la MT intestinal interviene en este efecto (138) (54).

Además, los elementos tienen en común la afinidad por la MT (378) (400), teniendo en común, por lo tanto, un importante mecanismo de transporte, como por ejemplo en el caso del cadmio (369) (138) o del mercurio (300), almacenamiento e, incluso, de protección frente a los efectos tóxicos de los mismos. En la bibliografía se citan efectos protectores para el cadmio (284) (248) (378) (249), el cobre (248) y el mercurio (248) entre otros.

El hecho de que la síntesis de metalotioneína (MT) se encuentre inducida por los metales esenciales Cu (240) (359) y Zn (54) (240) (359), así como por los metales tóxicos cadmio (240) (359) (248) y mercurio (259) (240) (359), explica el efecto protector de unos elementos sobre otros, como sucede con el zinc en el caso del cadmio (62) o en el caso del mercurio (24).

La interacción entre el mercurio y otros elementos, en particular el selenio, ha sido de gran interés en las últimas décadas (35). El selenio puede interaccionar en el organismo con una serie de metales tóxicos (As, Cd, Hg, Cu, Ag, Pb, etc.), impidiendo el daño de éstos en diferentes tejidos (513) (380). La reducción de la toxicidad del mercurio por parte del selenio ha sido observada por diversos autores por estudios, tanto en animales (497) (284) como en el hombre (407) (147) (179) (270). Sin la necesidad de suplementos de selenio, el selenio procedente de la alimentación es capaz de reducir la toxicidad crónica del metilmercurio (161).

El mecanismo por el cual el selenio ejerce una cierta protección contra la toxicidad del mercurio es desconocido (OMS, 1987), pero el hecho de que la vitamina E y otros antioxidantes tengan el mismo efecto protector ha planteado la hipótesis de que actúan sobre los radicales libres producidos en la acción del mercurio (162). Se han propuesto tres mecanismos de actuación: (513).

1. Formación de complejos insolubles y estables con estos metales.
2. Unión a proteínas de bajo peso molecular y junto al metal, formar proteínas de gran tamaño que no atraviesen la membrana celular.
3. Interfiriendo en el metabolismo de dichos metales (190).

La acción protectora del ión selenio en el caso del metilmercurio no implica un aumento en la excreción de mercurio, sino que origina una alteración en su distribución con incremento de la concentración de mercurio en el cerebro (497) lo que sugiere que el efecto sobre la distribución del mercurio se realiza por medio de un mecanismo tisular específico, mas que por un mecanismo general que afecte a todos los tejidos por igual (169). En el hombre expuesto de manera crónica al mercurio (inorgánico u orgánico) se observa una acumulación paralela de selenio y mercurio en riñón (32) y el resto de los tejidos (253).

Otros de los mecanismos de interacción entre elementos traza observados es la reducción de la proteína transportadora de cobre, ceruloplasmina, cuando se eleva la exposición al cadmio (328).

3.1.- METALOTIONEÍNA

La metalotioneína (MT), identificada por primera vez por Margoshes y Vallee en 1957 (312) en la corteza renal de caballos, es una proteína de bajo peso molecular, aproximadamente 6600 (6000 para la apoproteína tioneína) (378), con alto contenido en cisteína y, por lo tanto, una alta afinidad por ciertos cationes metálicos como el mercurio, cadmio, zinc, plata y cobre (447) que carece prácticamente de residuos aromáticos (165). La carencia de aminoácidos de carácter aromático y el que un tercio de sus aminoácidos sean cisteína confieren a la MT una inusual composición de aminoácidos (248). In vitro se han encontrado afinidades de unión con un gran número de otros metales tóxicos, entre los que se incluyen el bismuto, el cobalto, la plata y el oro (85). La MT se une a varios iones metálicos por molécula por medio de uniones con la cisteína pudiendo contener más de un metal al mismo tiempo (378).

Las MTs constituyen una *familia de proteínas* caracterizadas por un alto contenido en metales pesados (5-10% de Zn, Cd, Hg, Cu (359)), siete átomos en dos grupos de ligandos (359), y una gran abundancia de cisteína (206). Las MTs de mamíferos se dividen en cuatro grupos de la MT1 a la MT4 (206) (359). La MT1, rica en cadmio, y la MT2, rica en zinc, se encuentran en la mayoría de los tejidos (359), incluido el cerebro (206), mientras que la MT3, rica en zinc (359), (también denominado factor inhibitorio del crecimiento) y la MT4 se encuentran, principalmente, en el SNC y en la epidermis, respectivamente (206) (359). Todas las MTs están implicadas en diversas funciones fisiológicas, como el metabolismo de cobre y zinc, la protección frente a especies

reactivas de oxígeno o adaptación al estrés (206). En el caso de la MT3, se ha sugerido, también, un papel en la enfermedad de Alzheimer (206). Se encuentran *dos formas principales* de metalotioneína en la mayor parte de los tejidos de mamíferos, particularmente hígado y riñón: Metalotioneína I y Metalotioneína II (378)

La *inducción de su síntesis* es estimulada por glucocorticoides (240) (359), citokinas (24), hormonas (24), el stress (24), los metales esenciales Cu y Zn, así como por los metales tóxicos cadmio y mercurio (240) (359), lo que se considera como un mecanismo de protección de la toxicidad de estos metales tóxicos al evitar la interacción de éstos con sistemas biológicos dada la elevada estabilidad de los complejos de estos metales con la metalotioneína (165). En ratas, la síntesis de MT intestinal se ve inducida por Cd, Zn y Cu, pero por el Ni o Pb (511). En humanos, se ha sugerido que el Cd y el Zn inducen la síntesis de MT hepática (511). La concentración de MT3 en el SNC no parece variar con la exposición a metales y no se ha observado la inducción de su síntesis (359).

Aunque la MT fue descubierta hace más de 40 años, sus funciones fisiológicas no están todavía aclaradas (248). La creencia de que la MT tenía un papel fisiológico en la homeostasis de cobre y zinc ha sido puesta en duda por los estudios en ratones privados genéticamente de MT que no presentaban ninguna alteración en los niveles de estos dos metales aunque sí una alta susceptibilidad a la toxicidad por cadmio (248). Dichos estudios indican que el papel en la homeostasis del cobre y zinc no es crítico o, por lo menos, existe un sistema paralelo que compensa la deficiencia de MT (248).

La metalotioneína es una importante *proteína de transporte y almacenamiento* de cadmio y otros metales (378), siendo la inducción de su síntesis un importante mecanismo de adaptación para evitar la toxicidad de los metales en el hombre y los animales (249).

La función antioxidante de la MT fue sugerida por primera vez en los años 80. Estudios in vitro han revelado que la MT reacciona directamente con las especies de oxígeno reactivo, incluido el superóxido, los radicales hidroxilo y el peróxido de hidrógeno. Estudios farmacológicos y genéticos, in vivo, han demostrado las funciones de la MT como protectora del daño oxidativo (118).

II.- TÉCNICAS ANALÍTICAS

“Los elementos traza afectan a nuestra salud, la industria, el medio ambiente y, por lo tanto, son parte de nuestra vida diaria. Las técnicas gravimétricas y colorimétricas se utilizan desde el siglo XIX. En 1873, Champion, Pellet y Grenier cuantificaron el sodio de una solución acuosa utilizando la fotometría de llama. Con la llegada de la espectroscopía de absorción atómica con atomización de llama (FAAS) en 1928 y la espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica o de horno de grafito, en 1959 (ETAAS), el límite de cuantificación mejoró desde partes por cien (pph) o gramos por litro, a partes por millón (ppm) o miligramos por litro y, finalmente, a partes por billón (ppb) o microgramos por litro.” (76).

“Para reducir las interferencias producidas por la matriz o medio en el que se encuentra el analito, se han utilizado diferentes técnicas de digestión, dentro de las que están incluidas la digestión por vías húmeda y por vía seca, para analizar suero, sangre, orina y otros especímenes. Sin embargo, la adición de esta etapa de digestión puede introducir errores considerables, por lo que la aparición de la corrección de fondo por efecto Zeeman introdujo la posibilidad de analizar directamente las muestras clínicas, a excepción de los tejidos, sin una previa digestión.” (76).

“En los años setenta y ochenta aparecieron técnicas como la activación de neutrones o el plasma acoplado inductivamente (ICP) y, finalmente, la tecnología punta del plasma acoplado inductivamente acoplada a la espectrometría de masas (ICP-MS) que permite cuantificar los elementos traza a niveles de partes por trillón (ppt) o nanogramos por litro.” (76).

“Con el uso de estas técnicas se han descrito enfermedades asociadas a los elementos traza como la encefalopatía dialítica, en el caso del aluminio, la enfermedad de Wilson,

en el caso del cobre, que han provocado que se establezcan unos intervalos de concentración aceptables para los distintos elementos traza.” (76).

Para la determinación de elementos traza “in vivo” se utiliza la fluorescencia de rayos X (XRF) (determinación de plomo en huesos y de cadmio en riñón) y la activación neutrónica (NAA) (determinación de cadmio en riñón) (483).

Tabla II.1.- *Diferentes características de las principales técnicas analíticas utilizadas en la determinación de elementos traza. Tomada de (76)*

<i>Característica</i>	<i>FAAS</i>	<i>ETAAS</i>	<i>ICP</i>	<i>ICP-MS</i>	<i>NAA</i>
Linealidad	2-3 órdenes	2-3 órdenes	5-6 órdenes	5-6 órdenes	1-2 órdenes
Patrón interno	No	No	Si	Si	Si
Detección multielemental simultánea	No	No	Si	Si	Si
Interferencia de fondo	Si	Si	Baja	Baja	Si
Límite de detección	ppm	ppb	ppm-ppb	ppb-ppt	ppb-ppt

1.- ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Es, con diferencia, la técnica más ampliamente utilizada para el estudio de especímenes biológicos (76) (96).

1.1.- FUNDAMENTO

La espectrometría de absorción atómica se basa en la medida de la radiación absorbida por los átomos libres cuando se encuentran en su estado fundamental de menor energía. En este estado, cada átomo es capaz de captar un fotón de energía radiante pasando un electrón de su orbital más externo a un nivel de mayor energía.

La cantidad de radiación de una determinada frecuencia absorbida depende del número de átomos en estado fundamental existentes que sean capaces de absorber esta misma frecuencia.

Si bien, en teoría, son posibles transiciones desde un nivel excitado a un nivel superior, en la práctica, debido a la poca proporción de átomos excitados y, a que, en general, son transiciones de poca energía, sólo son detectables las líneas de absorción producidas por saltos electrónicos desde el nivel fundamental. Estas líneas de absorción reciben el nombre de *líneas de resonancia*. La característica que se acaba de indicar es la causa de que los espectros de absorción atómica sean, en general, más pobres en líneas que los de emisión correspondientes.

Esquemáticamente, un espectrofotómetro de absorción atómica dispone de una fuente de emisión que incluya la longitud de onda de absorción, un atomizador donde por medio de un horno electrotérmico se obtiene una nube de átomos, un monocromador que separa la línea de absorción y un detector (ver Figura II.1).

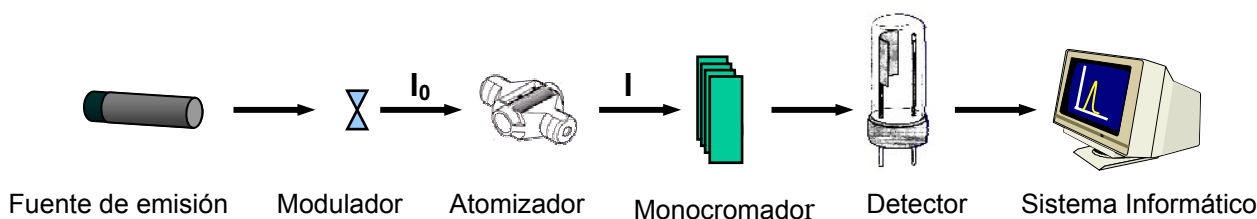


Figura II.1.- Esquema de un espectrofotómetro de absorción atómica

La anchura natural de una línea de absorción atómica es solamente de unos 10^{-5} nm. Aunque se produce un ensanchamiento inevitable que hace que las líneas tengan una anchura de 10^{-2} nm a 10^{-3} nm (335), las líneas de absorción son tan estrechas que ningún monocromador corriente puede conseguir una radiación monocromática cuyo intervalo de frecuencias se encuentre comprendido dentro del intervalo de la línea de absorción de átomos de la muestra (488). Esto provocaría que si se utilizase una fuente de radiación continua acoplada a un monocromador, sólo una pequeña fracción de radiación incidente sería absorbida por la muestra (incluso suponiendo una concentración elevada), ya que la mayor parte del intervalo de frecuencias que llegan a la muestra no puede ser absorbida. En estas condiciones, la sensibilidad del método sería muy baja y no cumpliría la ley de Beer (488).

Para evitar esto último, se utilizan fuentes de emisión de líneas, constituidas por el mismo elemento cuya absorción se quiere medir. Mediante un monocromador se podrá aislar la línea que interese para incidir sobre la muestra.

Las fuentes de emisión más utilizadas son las *lámparas de descarga de cátodo hueco*. Este tipo de lámpara consiste en ánodo de wolframio y un cátodo cilíndrico, cerrados herméticamente en un tubo de vidrio con una ventana delantera de cuarzo lleno de un gas ionizable a 1 a 5 torr de presión (generalmente Ar o Ne). El cátodo está construido con el metal, cuyo espectro se desea obtener, o bien sirve de soporte para una capa de dicho metal. Cuando se aplica una diferencia de potencial entre los electrodos se produce la ionización del gas y circula corriente como resultado del movimiento de los iones hacia los electrodos. Si el potencial es suficientemente elevado (500 voltios) los

caciones gaseosos producen la liberalización de átomos excitados del metal al chocar con la superficie del cátodo. La superficie del cátodo tiende a concentrar la radiación hacia la ventana de cuarzo y facilita el depósito posterior de los átomos sobre el electrodo evitando que se depositen sobre las ventanas de cuarzo y sobre las paredes de la lámpara, disminuyendo la intensidad de radiación emitida.

La eficacia de la lámpara de cátodo hueco depende de su geometría y del potencial aplicado. Los potenciales elevados y, por consiguiente, las corrientes altas, originan intensidades de radiación mayores. Esta ventaja se neutraliza, en parte, por un aumento del ensanchamiento Doppler de las líneas de emisión. Además, las corrientes elevadas provocan un aumento del número de átomos no excitados en la nube; los átomos no excitados, a su vez, son capaces de absorber la radiación emitida por los átomos excitados. Esta autoabsorción reduce la intensidad, en particular en el centro de la banda de emisión (488).

En el comercio existe una gran variedad de tubos de cátodo hueco; en algunos casos los cátodos están constituidos por una mezcla de varios metales, lo que permite el análisis de más de un elemento.

La vida de las lámparas de cátodo hueco es limitada, estando condicionada al depósito de partículas procedentes del cátodo sobre las paredes y la ventana, entrada de aire, oxidación del cátodo, etc. Puede prolongarse cerca de 1000 horas (335) (488).

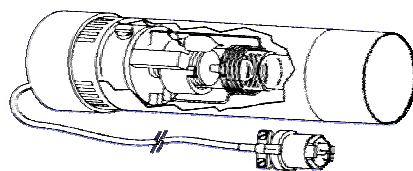


Figura II.2.- Lámpara de descarga sin electrodos (EDL)

Las lámparas de descarga sin electrodos (EDL) son buenas fuentes de espectros atómicos de líneas y, por lo general, producen intensidades radiantes que son uno o dos

órdenes de magnitud superiores que las correspondientes de cátodo hueco. Una lámpara de estas características se construye con un tubo de cuarzo herméticamente cerrado que contiene una pequeña cantidad del metal (o de su sal), cuyo espectro se desea obtener, y unos pocos torr de un gas inerte como el argón. La lámpara no contiene electrodos y, en su lugar, para su activación se utiliza un campo intenso de radiofrecuencias o radiación de microondas. De esta forma, se produce la ionización del argón, originándose iones que son acelerados por la componente de radiofrecuencia del campo hasta que adquieren energía suficiente para excitar a los átomos del metal cuyo espectro se desea.

Las lámparas EDL son mucho más intensas y se obtiene una mayor sensibilidad que con las correspondientes lámparas de cátodo hueco (488). Además, la vida de una lámpara EDL es considerablemente superior que las correspondientes de cátodo hueco (488), (335). Originalmente, las lámparas EDL fueron diseñadas para aquellos elementos con elevadas presiones de vapor (As, Cd, Se y Zn) para los cuales es difícil construir lámparas de cátodo hueco (199).

La utilización de una rendija “slit” (de entrada al monocromador) grande llenará en exceso el monocromador de luz procedente de la fuente de emisión, mientras que una rendija inferior restringirá la luz recibida por el monocromador (39). El tamaño de la rendija de entrada está marcado (limitado) por la posibilidad de separar líneas al final del monocromador, en la rendija de salida. y, por lo tanto, de la capacidad del monocromador de separar las líneas procedentes de la fuente de emisión (39).

El propósito de un espectrofotómetro es el de aislar la línea de absorción de la luz dispersa “stray light” que llega al detector. Para ello, se utilizan rendijas, normalmente, desde 0,1 nm hasta 1,5 nm (199). Una longitud focal corta, un gran altura de rendija, area del monocromador, la anchura espectral de trabajo y una fuente de emisión fuerte, mejorarán el límite de detección (199). Hay limitaciones para la optimización de estos parámetros, así la altura de rendija está limitada por el tamaño de la lámpara de cátodo hueco y el diámetro del tubo de grafito, por lo que, la máxima altura de rendija es de 2 nm (199).

1.2.- ATOMIZADOR DE LLAMA

El atomizador de llama, consta, en general, de una llama fría similar a la que se utiliza en la fotometría de llama, cuya misión consiste en llevar la muestra a su estado atómico sin producir, en lo posible, átomos excitados. La muestra, como en la fotometría de llama, debe llegar en forma de diminutas gotas de tamaño uniforme, para lo que se utiliza un sistema nebulizador (488). La solución de muestra es aspirada en el nebulizador donde se forma un aerosol al que se le mezcla el oxidante y combustible para ser transportados al quemador (39). Existen dos tipos de discriminadores de gotas procedentes de la nebulización: “flow spoiler” y el de impacto de bolas. Se utiliza un nebulizador de impacto de bolas cuando se requiere mejorar la eficiencia de nebulización, aunque una mayor proporción de gotas en el quemador puede provocar peores precisiones y un aumento de las interferencias. Los nebulizadores de impacto de bolas pueden provocar efecto memoria con soluciones de elevadas concentraciones. El “flow spoiler” no mejora la nebulización, tan sólo discrimina las gotas grandes de las pequeñas, evitando que las grandes lleguen al quemador (39).

Se produce la atomización en cuatro etapas sucesivas (488):

- Nebulización	gotas de líquido
- Evaporación	aerosol líquido-gas (evaporación del disolvente)
- Vaporización	vapor de moléculas (vaporización del soluto)
- Atomización	vapor de átomos

La evaporación del disolvente de la muestra depende de la temperatura de la llama y del diámetro de las gotas. Dicho tiempo aumenta en proporción directa con el cuadrado del diámetro de las gotas. (488) Puesto que la energía térmica de la llama es la responsable de la producción de las especies absorbemntes, la temperatura de la llama es un importante parámetro a tener en cuenta (39). Las llamas más frías están sujetas a un mayor número de interferencias puesto que, en ocasiones, la atomización es incompleta

(39). Las dos mezclas utilizadas casi con exclusividad hoy en día son el aire-acetileno y el óxido nitroso-acetileno. Mientras que la llama de aire-acetileno da resultados satisfactorios para la mayor parte de los elementos, la llama de óxido de nitroso-acetileno, más energética, se necesita en muchos elementos que forman compuestos refractarios (39).

Tabla II.2.- *Temperatura de la llama de distintas mezclas.*
Tomada de (487) Skoog DA, Leary JJ, 1993

Combustible	Oxidante	Temperatura (°C)
Gas natural	Aire	1700-1900
Gas natural	Oxígeno	2700-2800
Hidrógeno	Aire	2000-2100
Hidrógeno	Oxígeno	2550-2700
Acetileno	Aire	2100-2400
Acetileno	Oxígeno	3050-3150
Acetileno	Óxido nitroso	2600-2800

La región de la llama donde se produce la absorción máxima depende del tamaño de la gota, tipo de llama, proporción del oxidante y combustible y, también, la tendencia del elemento a oxidarse (488). Se pueden dibujar unos perfiles de absorción de llama que relacionan la intensidad de absorción con la altura sobre el mechero para cada elemento (488).

Como se muestra en la figura II.3, las regiones más importantes de la llama son la zona de combustión primaria, la región interconal y el cono exterior. El aspecto y el tamaño relativo de estas regiones varían considerablemente con la relación combustible/oxidante y también con el tipo de combustible y de oxidante. la zona de combustión primaria se reconoce por su luminiscencia azul que proviene de los espectros de C_2 , CH y otros radicales. En general, en esta zona no se alcanza el equilibrio térmico por lo que rara vez se utiliza como zona de absorción. El área interconal, que puede alcanzar varios centímetros de altura, es la parte de la llama que se utiliza en espectroscopia por tener un mayor proporción de átomos libres. El cono exterior es una zona de reacción secundaria donde los productos formados en la región interior se convierten en óxidos moleculares estables (488).

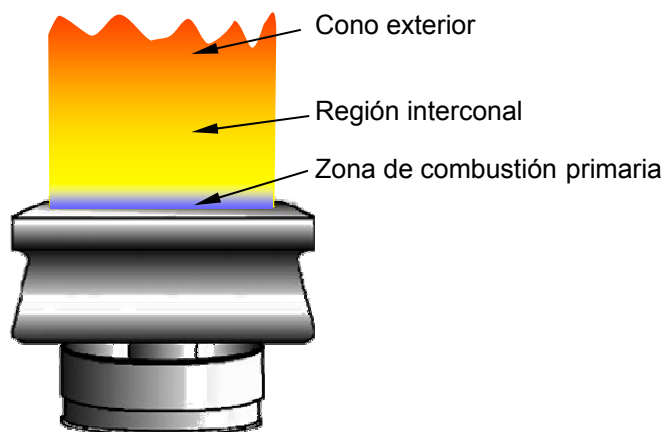


Figura II.3.- Esquema de una llama de aire-acetileno

Los quemadores suelen ser de acero inoxidable, siendo la cabeza del quemador generalmente de titanio por su mayor resistencia a la corrosión (39). Cuando se utiliza una llama de aire-acetileno el quemador que se suele utilizar tiene una cabeza de 10 cm de ancho, mientras que para mezclas de óxido de nitroso-acetileno el ancho de la cabeza del quemador suele ser de 5 cm y con una menor profundidad (39).

En términos de reproducibilidad, la atomización con llama resulta ser superior a todos los demás métodos que se han desarrollado hasta ahora para la introducción de muestras líquidas. Sin embargo, en términos de eficacia de la introducción de la muestra (y por ello de sensibilidad) otros métodos son claramente mejores. Las dos razones de esto último son: una gran proporción de muestra se pierde por drenaje y el tiempo de residencia de los átomos individuales en el camino óptico de la llama es breve. (488).

1.3.- ATOMIZACIÓN ELECTROTÉRMICA

Los atomizadores electrotérmicos, que aparecieron en el comercio en 1970 (488), proporcionan en general una mayor sensibilidad debido a que toda la muestra se atomiza en un periodo de tiempo muy breve y el tiempo promedio de residencia de los átomos en el camino óptico es de un segundo o más. En los atomizadores

electrotérmicos se evaporan primero unos pocos microlitros de muestra a baja temperatura, y luego se calcinan a una temperatura algo más alta en un tubo o cubeta de grafito calentado eléctricamente. Después de la calcinación, la corriente se incrementa a varios cientos de amperios, lo que eleva la temperatura aproximadamente a unos 2000-3000°C; la atomización de la muestra se produce en un período de unos pocos milisegundos a segundos. En estas condiciones, se mide la absorción de las partículas atomizadas.

La espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS) se ha convertido en la técnica más ampliamente utilizada para la determinación de metales ultratraza en muestras biológicas (493).

La plataforma de L'vov se utiliza con frecuencia. Es también de grafito y se encuentra debajo del orificio de entrada de la muestra. La muestra se calienta por radiación de las paredes del tubo y, de esta manera, está expuesta a cambios menos rápidos de temperatura de lo que hubiese estado en contacto directo con la pared del tubo por lo que se obtienen picos más reproducibles (488) (493).

Los tubos de grafito con calentamiento transversal eliminan las zonas frías que se producían en los tubos de grafito longitudinales, evitando así, procesos de condensación y el subsiguiente problema de “memoria” en la siguiente atomización. (39).

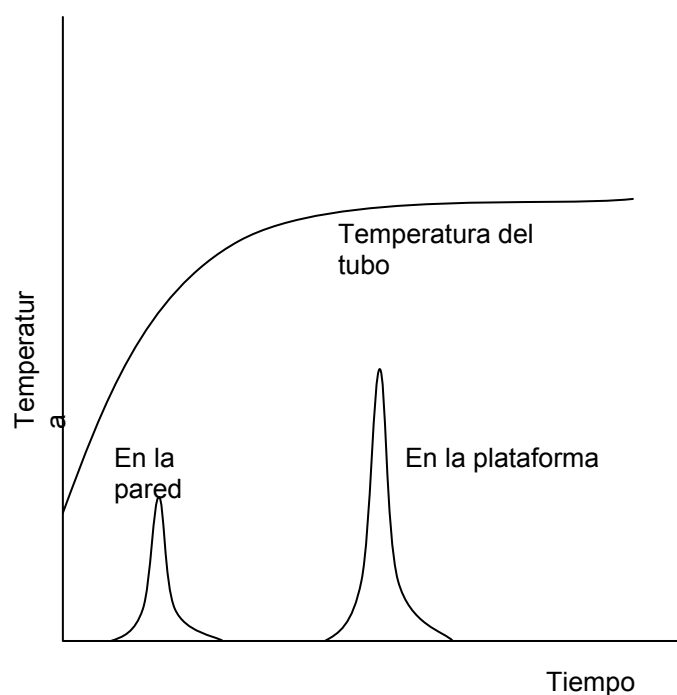


Figura II.4.- Diferentes tipo de volatilización con la utilización de plataforma de L'vov. Tomado de [421](Slavin, 1988).

Con este tipo de tubos de grafito se observa un aumento de la sensibilidad, principalmente en aquellos elementos más volátiles como es el caso del selenio.

Slavin et al, (492), en 1981, indicaron que el sólo uso de la plataforma de L'vov no era suficiente para asegurar análisis más exactos, por lo que introdujeron el concepto de “Stabilized Temperature Platform Furnace” o “STPF”, nombre que adquiere la técnica de AAS cuando se encuentra lo más cercana posible a los requerimientos teóricos (493), técnica que incluye otras características adicionales: calentamiento rápido y electrónica digital de gran velocidad para capturar la transitoria señal de absorbancia, medición de el área integrada de pico mejor que la altura del pico de absorbancia, plataformas pirolíticas y tubos de grafito recubiertos, corrección de fondo por efecto Zeeman, la utilización de un corrector de la línea base antes y después de la atomización “background-offset compensation” (BOC) y el uso de modificadores químicos.

La utilización de la altura de pico como modo de medida requiere una igualdad en la

forma de pico para todas las muestras, sean patrones acuosos o muestras biológicas, condición que raramente se produce (504).

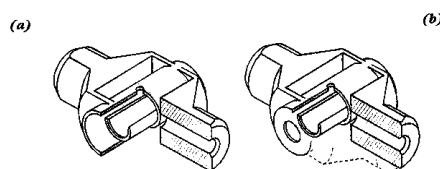


Figura II. 5.- Tubos de grafito de calentamiento transversal, con plataforma de L'vov integrada. a) Sin End-cup. b) Con End-cup

Se ha demostrado empíricamente que reduciendo la porosidad natural del tubo de grafito se pueden reducir algunos de los efectos de la matriz de la muestra y la mala reproducibilidad. Durante la atomización, parte del analito y de la matriz difunden el tubo, lo que retarda el proceso de atomización obteniéndose menores señales del analito. Para evitar este efecto, la mayoría de las superficies de grafito se recubren con una delgada capa de carbono pirolítico, que permite sellar los poros del tubo de grafito (488). Imai et al, en 1998, recubren el tubo de grafito con diferentes elementos refractarios como Hf, Ti, W y Zr, inyectando una gota de la sal del metal en el tubo y aplicando un tratamiento térmico posterior (218).

Se encuentran en el mercado tubos de calentamiento transversal con unas tapas de grafito en la entrada y salida del haz óptico con unas aperturas para permitir el mismo, denominados tubos “end-cup”, que confieren la nube gaseosa en el momento de la atomización. Las aperturas de 3 mm o mayores no interfieren en el paso de la luz procedente de la fuente de emisión (227).

El uso de tapas “end-cup” en los tubos de calentamiento transversal reduce la pérdida de analito por difusión, produciéndose un aumento de sensibilidad al aumentar la señal manteniéndose constante la señal de fondo o ruido (227). El mayor aumento de sensibilidad se observa en aquellos elementos que requieren una temperatura de atomización más alta (227). Las tapas “end-cups” sólo pueden utilizarse en tubos de calentamiento transversal puesto que mantienen una temperatura uniforme a lo largo del

tubo. En los tubos de calentamiento longitudinal, se provocarían condensaciones en las mismas por su más baja temperatura (460).

Zong et al, en 1998, observan una disminución de la interferencia producida por los fosfatos cuando se analiza plomo, al utilizar tubos con tapas “end-cup” (584).

La precisión relativa de los métodos electrotérmicos se encuentra de ordinario en el intervalo del 5 al 10% en comparación con el aproximadamente 1% que se obtiene en los atomizadores de llama o plasma (488) debiendo ser inferiores al 15% cuando se refieren a una variación intradía (493). Además, los métodos de horno son lentos, requieren varios minutos por elemento (96). Otra desventaja es que el intervalo analítico es pequeño. En consecuencia, normalmente se aplica sólo cuando la atomización con llama o plasma no proporciona los límites de detección adecuados (488).

Rama de Temperaturas

La inyección de la muestra, el tratamiento térmico previo a la atomización y la necesidad de enfriar el horno antes de inyectar la siguiente muestra, hacen de la ETAAS una técnica relativamente lenta, alrededor de dos minutos (460). Cuando se utiliza plataforma, no se recomiendan volúmenes de muestra superiores a 50 μL (39). Normalmente el volumen de inyección suele ser de 20 μL (39).

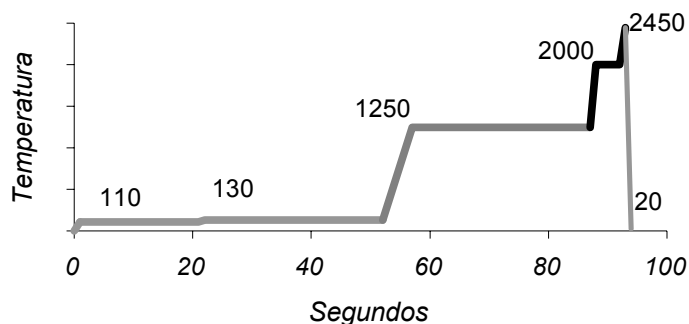


Figura II.6.- Rampa de temperaturas para la determinación del selenio en suero y sangre

Una vez que se ha depositado la muestra en el tubo de grafito, ésta debe ser secada antes de su atomización. La temperatura de secado se elige un poco superior al punto de ebullición del disolvente y debe alcanzarse lentamente para evitar posibles salpicaduras (96), que provocarían una menor precisión en el análisis (39). El tiempo de secado depende del volumen de muestra así como de su composición (97). La existencia de plataforma permite la utilización de rampas de secado más rápidas (39). Además, una alta velocidad de secado puede inducir la formación de pequeños cristales de matriz o analito que pueden dispersarse en la superficie de la plataforma de grafito, lo que puede afectar a la forma del pico de absorbancia pero no a su área. (209).

En el caso de muestras biológicas, cuya matriz es compleja, es recomendable utilizar dos o más etapas de secado: la primera a una temperatura inferior al punto de ebullición del espécimen y la segunda etapa a una temperatura superior (96).

El propósito de una etapa de pirólisis es el de volatilizar los componentes de la matriz que acompañan al analito. Durante esta etapa la temperatura se eleva todo lo posible para eliminar toda la matriz que pudiera interferir sin llegar a la temperatura en la que empieza a volatilizarse el analito o sus compuestos. La temperatura y la duración de las etapas de pirólisis y secado contribuyen de forma importante a la reproducibilidad y exactitud del método (417). Para muestras difíciles de mineralizar, es posible introducir en esta etapa gases que faciliten el proceso de oxidación de la matriz, como el aire o el oxígeno. La introducción de aire u oxígeno presenta como inconvenientes un rápido deterioro del tubo de grafito, dado que el carbono del tubo a temperaturas altas puede ser oxidado a CO y CO₂, por lo que la introducción de estos gases debe hacerse a temperatura inferior a 500 °C (97).

En la etapa de atomización se provoca la volatilización del elemento a analizar para que éstos puedan absorber la luz incidente. En esta etapa la velocidad en la que se alcanza la temperatura de atomización debe ser lo más rápida posible y se debe interrumpir el flujo de gas para aumentar la permanencia de la nube de átomos en la trayectoria del haz de luz (39). La etapa de atomización debe elevar la temperatura para que el analito se vaporice sin sobrecalentar el sistema. Temperaturas excesivamente altas puede reducir

el tiempo de permanencia del analito en el horno pero puede que el área de pico permanezca siendo aproximadamente la misma (209). La etapa de limpieza se utiliza para eliminar cualquier especie residual o refractaria.

Las rampas o procedimientos puede que no funcionen de la misma manera en diferentes modelos de hornos de grafito (209).

Para optimizar un programa en la cámara de grafito es necesario estudiar las temperaturas y tiempos de secado, mineralización y atomización. Las temperaturas adecuadas a las tres etapas pueden lograrse rápidamente o lentamente utilizando rampas, siendo necesario estudiar también el tiempo necesario para alcanzar las temperaturas óptimas de cada etapa. Por otra parte, el flujo de gas inerte que circula por el interior de la cámara de grafito es otra variable que va a influir en la atomización, sobre todo desde el punto de vista de la sensibilidad; por lo tanto, temperatura, tiempos de calentamiento y de rampa así como el flujo de gas inerte son los parámetros que debemos optimizar para cada una de las etapas. Para un programa típico con las tres etapas antes mencionadas, son 12 las variables que optimizar, por lo que el conseguir un buen programa en condiciones óptimas requiere el uso de un buen conocimiento de los procesos físico-químicos que se producen en cada etapa y de cómo estos pueden influir en la señal de absorción atómica del analito (97).

1.4.- INTERFERENCIAS

En los métodos de absorción atómica se encuentran dos tipos de interferencias:

- *Interferencias espectrales*, que se producen cuando la absorción de una especie que interfiere se sobrepone o aparece muy cerca del analito, de modo que su resolución por el monocromador resulta imposible.

- *Interferencias no espectrales o químicas*, que se producen como consecuencia de diversos procesos químicos que ocurren durante la atomización y que alteran las características de absorción del analito.

Interferencias Espectrales

Dado que las líneas de emisión de la fuente son muy estrechas, la interferencia que se produce por superposición de línea es rara. Para que exista, la separación entre ambas líneas tendría que ser menor de 1 nm (488). Muchas veces, el elemento que produce la interferencia tiene que estar en una relación 10 a 100 veces la concentración del analito para que la interferencia sea apreciable (199).

La interferencia de emisión del tubo de grafito, al comportarse como un cuerpo negro, sobre todo cuando se trata de elementos que absorben en el visible (los que lo hacen en el ultravioleta tiene menos problemas) obliga a reducir la rendija de entrada al monocromador para que el detector se encuentre alineado con la línea de absorción del elemento y no lo está con la emisión procedente del tubo de grafito. Muchos instrumentos diseñados para atomización, a la vez, de llama y grafito, tienen dos series de rendijas. La baja (algunas veces denominada “alternate”) se utilizan en el horno de grafito para eliminar el problema de la emisión del tubo de grafito (39). El analista debe alinear perfectamente el horno de grafito para evitar que esta emisión de “cuerpo negro” se produzca y, lo que es más importante, la temperatura de atomización debe ser lo más baja posible para reducir la emisión del tubo de grafito y, además, prolongar la vida del tubo (39).

Tabla II.3.- Interferencias espectrales. Tomada de (199).

	Longitud de onda (nm)	Intensidad Relativa (1)	Elemento de interferencia	Longitud de onda (nm)	Diferencia de longitud de onda (nm)
Cd	228,802	1,00	As	228,812	0,010
			PO		
Cu	324,754	1,00	Eu	324,753	0,001
			Pd	324,270	0,484
			Ni	324,306	0,448
	327,396	0,45	Ag	328,068	0,672
			Rh	328,055	0,659

	216,509	0,16	Fe	216,677	0,168
			Pb	216,999	0,490
			Pt	216,517	0,008
Pb	216,999	2,36	Cu	216,509	0,490
			Sb	217,581	0,582
			Ni	216,555	0,444
			Fe	217,809	0,810
			AlO		
	283,306	1,00	Pt	283,030	0,276
			Sn	283,999	0,693
	261,418	0,41	Co	261,413	0,005
Pd	244,791	1,00	Cu	244,164	0,627
			Ru	245,553	0,762
	247,642	0,88	Pb	247,638	0,004
			Fe	247,978	0,335
			PO		
Se	196,026	1,00	Bi	195,948	0,078
			Co	197,385	1,359
			Pd	196,011	0,015
			Fe	195,949	0,077
			NO,PO	---	---
	203,985	0,1	Cr	203,900	0,085

(1) Sensibilidad de la línea del elemento en relación a la línea más sensible del mismo, a la que se le da el valor 1.

También se producen interferencias debidas a la presencia de productos de la combustión que posean bandas de absorción anchas o productos en forma de partículas que dispersan la radiación. Un ejemplo de una posible interferencia de este tipo se produce en la determinación de bario en mezclas de elementos alcalino térreos. La longitud de onda de la línea del bario que se utiliza para su análisis por absorción atómica, aparece en el centro de una banda ancha de absorción que corresponde al CaOH. En este caso particular, se elimina fácilmente la interferencia si en lugar de aire como oxidante se utiliza óxido nitroso: la mayor temperatura que se obtiene con este último descompone el CaOH y elimina la banda de absorción (488).

La interferencia espectral debida a la dispersión por los productos de la atomización se produce, con frecuencia, cuando se aspiran en la llama disoluciones concentradas que contienen elementos tales como Ti, Zr y, los cuales forman óxidos refractarios. En estos casos se forman partículas de óxidos metálicos cuyos diámetros son mayores que la longitud de onda de la luz, lo que origina una dispersión del haz incidente (488).

La interferencia más importante que se produce en la ETAAS es la “absorción del fondo”. Estas interferencias se deben a la presencia de productos que posean bandas de absorción anchas o productos en forma de partículas que dispersan la radiación (488).

Interferencias Químicas

Las interferencias químicas son más comunes que las espectrales. Son interferencias entre el analito y la matriz. En el medio gaseoso y caliente de un horno, diversas reacciones de disociación y asociación provocan la conversión de los constituyentes metálicos a su forma elemental. Parece probable que por lo menos algunas de estas reacciones sean reversibles.

En muchos casos, sus efectos son mínimos si se escogen las condiciones de trabajo adecuadas. Existen evidencias teóricas y experimentales que indican que muchos de los procesos que se producen en el medio incandescente de la llama, están aproximadamente en equilibrio. En consecuencia, es posible considerar a los gases que queman como un medio disolvente en el que se pueden aplicar cálculos termodinámicos. Los equilibrios que interesan más son la formación de compuestos de baja volatilidad, las reacciones de disociación y las de ionización. (488).

a) Formación de compuestos poco volátiles

El tipo más común es, probablemente el producido por aniones que forman compuestos de baja volatilidad con el analito y, en consecuencia, reducen su velocidad de atomización, lo que origina resultados menores de los esperados. Como ejemplo, puede citarse la disminución de absorbancia del calcio que se observa a medida que aumenta la concentración de sulfato o fosfato. En muchas ocasiones pueden eliminarse o atenuarse este tipo de interferencias aumentando la temperatura de la llama. También se pueden emplear agentes liberadores, que son cationes que reaccionan preferentemente con la interferencia e impiden su interacción con el analito. Por ejemplo, la adición de un exceso de iones estroncio o lantano reduce a un mínimo la interferencia del fosfato en la determinación del calcio. Los llamados agentes protectores impiden las interferencias formando con el analito especies estables volátiles. Existen tres reactivos que por lo

común se utilizan con este fin: el EDTA, la 8-hidroxiquinoleína y el APDC (sal de amonio del ácido 1-pirrolidinacarboditioico). Se ha demostrado que la presencia de EDTA elimina las interferencias del aluminio, silicio, fosfato y sulfato en la determinación del calcio y del magnesio (488).

b) Equilibrios de disociación

En el medio gaseoso y caliente de una llama o de un horno, diversas reacciones de disociación y asociación provocan la conversión de los constituyentes metálicos a su forma elemental. Parece probable que por lo menos algunas de estas reacciones sean reversibles (488).

c) Ionización en llamas

En las mezclas de combustión que contienen aire como oxidante, la ionización de los átomos es pequeña, y por lo general, puede despreciarse. Sin embargo, en las llamas en las que el oxidante es el oxígeno o el óxido nitroso, la ionización es más importante, y hay una concentración notable de electrones libres como consecuencia del equilibrio:



La presencia de equilibrios entre iones y átomos en las llamas tiene algunas consecuencias importantes en la espectroscopía de llama. Por ejemplo, la intensidad de las líneas de absorción o emisión atómicas de los metales alcalinos (en particular K, Rb, Cs) está afectada de forma compleja por la temperatura. Las temperaturas elevadas provocan un aumento de la población de átomos excitados que se contrarresta por efecto de la ionización. Por lo tanto, en determinadas circunstancias y en las llamas más caloríficas se puede observar una disminución de la absorción o emisión (por esta razón suelen especificarse temperaturas de excitación más bajas para el análisis de los metales alcalinos). Estos efectos se pueden eliminar agregando un supresor de ionización que aporta una alta concentración de electrones a la llama, como por ejemplo, la adición de iones K^+ que anula la ionización del Sr en una llama de óxido nitroso y, por lo tanto, la pendiente de la curva de calibración (488).

Métodos para la corrección de las interferencias de la matriz

Para corregir las interferencias espectrales debidas a los componentes de la matriz se utilizan principalmente la corrección de fondo con lámpara de deuterio y la corrección de fondo por efecto Zeeman. La longitud de onda del corrector de fondo debe estar lo más próximo posible a la línea de absorción pero *no debe ser absorbida por éste*. Si se reúnen estas condiciones, se supone que cualquier disminución en la potencia del corrector de fondo se debe a la dispersión o absorción por los componentes de la matriz de la muestra (488).

En el caso de la lámpara de deuterio, la configuración del cortador se modifica para que la radiación de la fuente continua y la de la lámpara de cátodo hueco pasen alternadamente a través del atomizador. La anchura de rendija se ajusta con un ancho suficiente para que la fracción de la fuente continua que se absorbe por los átomos de la muestra sea despreciable (488).

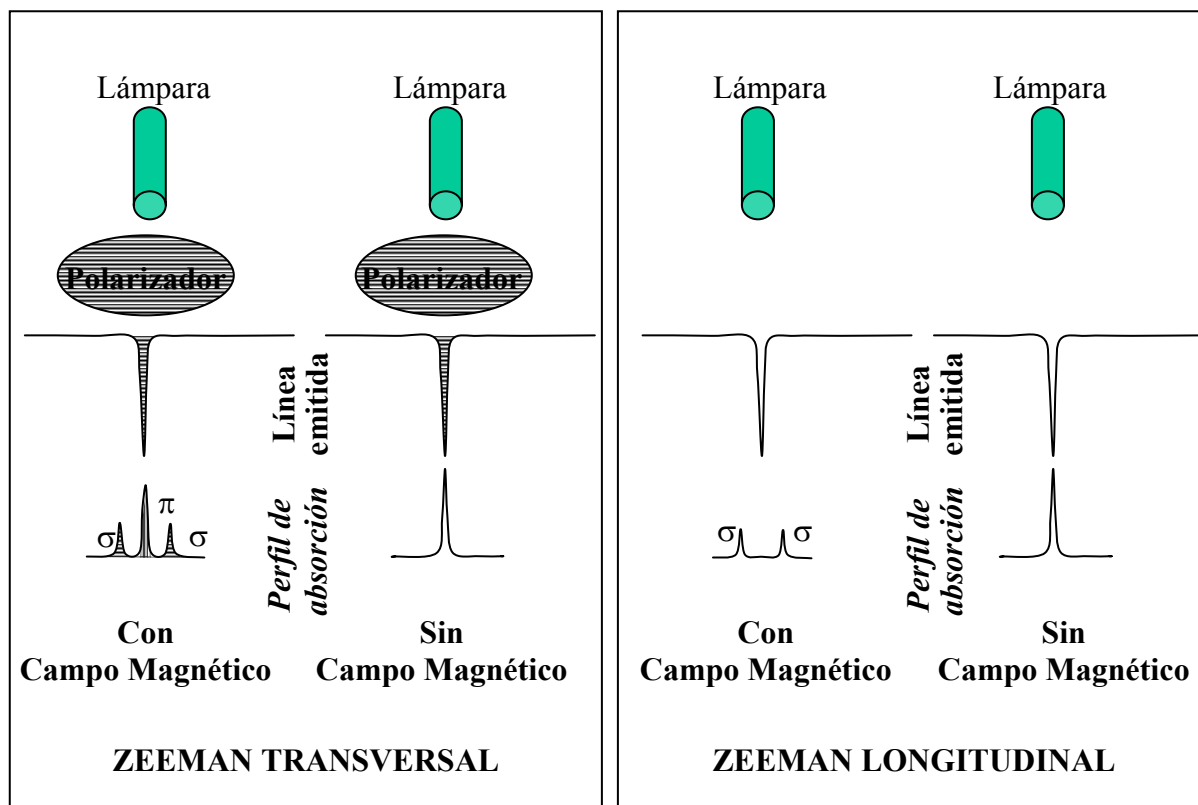


Figura II.7.- Perfiles de emisión y absorción con corrección de fondo por efecto Zeeman

En el caso del corrector de fondo por efecto Zeeman, la línea de absorción se expone a un intenso campo magnético que la desdobla en otras líneas que difieren 0,01 nm entre ellas. En función del tipo de transición electrónica implicado existen distintos modelos de desdoblamiento. En el caso más simple, denominado efecto Zeeman normal, se produce un desdoblamiento en una línea central " π ", de la misma longitud de onda que la original, y dos líneas satélite " σ ", de absorbancia mitad que la de la línea central. En el sistema de corrección de fondo por efecto Zeeman original o Zeeman transversal, donde el campo magnético aplicado es perpendicular o transversal al recorrido óptico de la línea transmitida por la fuente de emisión, la línea o líneas centrales " π " se encuentran polarizadas en un plano paralelo al campo magnético y las líneas " σ " polarizadas a 90° del mismo.

Cuando se aplica el campo magnético sobre la fuente de emisión, la emisión de ésta última puede ser inestable, por lo que se prefiere aplicar el campo magnético sobre la muestra en el tubo de grafito (470). Un campo magnético fijo provoca, principalmente en

el caso de desdoblamiento múltiple, en lo que se denomina efecto Zeeman anómalo, un descenso en la sensibilidad del método por la menor intensidad de la línea de absorción o componente (470), por lo que se prefieren sistemas en los que el campo magnético se hace intermitente o se modula. Los sistemas de Zeeman transversal utilizan un polarizador fijo perpendicular al campo magnético para diferenciar la luz absorbida por el analito más la del fondo: cuando no está presente el campo magnético; y la luz absorbida sólo por el fondo: En el momento en el que actúa el campo y no puede absorber la componente “ π ” por estar polarizada perpendicularmente al campo magnético. Cuando el campo magnético aplicado es longitudinal a la del haz de luz de la fuente de emisión, practicando un orificio en los imanes, no aparece el componente “ π ” central y, por lo tanto, no es necesario un polarizador interpuesto en el camino óptico de la fuente de emisión para diferenciar la absorción del fondo, por lo que no se reduce la intensidad de la línea de emisión por el paso a través del polarizador (39).

El corrector de fondo por efecto Zeeman corrige altos niveles de absorción de fondo a una longitud de onda muy cercana a la de absorción, provee un verdadero doble haz corrector, y sólo requiere una fuente de emisión sin necesidad de alineamientos entre ellas ni de regular la intensidad entre ellas.

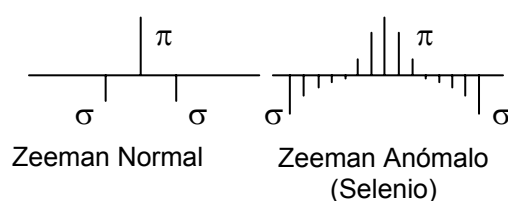


Figura II.8.- Esquema que representa el Efecto Zeeman Normal y el Efecto Zeeman anómalo que se produce en el selenio. Los componentes p se representan por encima de la línea horizontal, al contrario que los componentes “ σ ”.

Modificadores de matriz

Los modificadores de matriz son sustancias químicas, modificadores químicos, que se adicionan a las muestras, patrones o la superficie del tubo de grafito, para eliminar la matriz a menor temperatura o retener el analito a las temperaturas que se elimina la

matriz (488). Los modificadores de matriz a veces contaminan la muestra con el resultado de un blanco elevado, aunque para la mayor parte de los metales la utilización de un modificador de matriz es imprescindible (493).

Las sucesivas condensaciones y vaporizaciones de los analitos de la muestra durante la rampa de temperaturas pueden provocar errores analíticos (228). Chen y Jackson, en 2000, observan que muchos analitos migran desde las zonas calientes del tubo de grafito a las zonas frías bajo las condiciones térmicas habituales en una rampa de temperaturas (82). El uso de modificadores de matriz, como, por ejemplo el paladio, estabilizan el analito e impiden la migración del mismo antes de la atomización (437). Como modificadores se pueden utilizar el Ni, Pd, Mg, Ir y los fosfatos entre otros, así como mezclas de los mismos (227). El Pd sólo o en combinación con otros modificadores es el modificador más ampliamente utilizado llegando a ser propuesto como modificador universal (460).

Las sales de amonio se utilizan más que como modificador, para eliminar la interferencia producida por los cloruros. Tal y como se observa en la Tabla II.4, al adicionar nitrato amónico, los productos resultantes tiene una temperatura de descomposición inferior a la del NaCl, impidiendo de esta forma la interferencia que éste último produjera (39).

Tabla II.4.- Modificador de matriz de nitrato amónico para eliminar la interferencia de NaCl Tomado de (39).

<i>Compuestos</i>	<i>Temperatura de descomposición (°C)</i>
NaCl	1400
NH ₄ NO ₃	210
NaNO ₃	380
NH ₄ Cl	330



Aunque no es propiamente dicho un modificador, el Triton X-100 se añade frecuentemente a la muestra como homogeneizante junto con el diluyente. Provoca la lisis de las células sanguíneas proporcionando soluciones homogéneas. Si embargo, soluciones de concentración superior a 1% (v/v) pueden dañar seriamente las paredes del tubo después de 100 encendidos. Por lo tanto, 0,25% es la concentración máxima

que se puede inyectar en el atomizador (442). También se utiliza el ácido ascórbico como agente reductor (227).

Los modificadores convencionales se adicionan a la muestra antes de que se produzca la atomización, puesto que son eliminados durante la misma, pudiendo aportar contaminación a la muestra. Para evitar los inconvenientes de los modificadores de matriz convencionales se utilizan modificadores permanentes que interaccionan con la superficie de grafito de manera lo suficientemente fuerte como para no ser eliminados en las distintas etapas de la rampa de temperaturas. Las posibles impurezas son eliminadas en un acondicionamiento inicial (228).

Rademeyer et al, en 1995, añaden iridio al tubo de grafito para estabilizar ciertos metales volátiles como el cadmio, plomo y selenio, en los que se estabiliza el elemento hasta 700 encendidos (416).

1.5.- LÍMITE DE DETECCIÓN Y MASA CARACTERÍSTICA

La masa característica es la masa del analito, en picogramos, necesaria para producir una señal de absorbancia, en altura de pico o área integrada de pico, de 0,0044 absorbancias. Este valor de 0,0044 lo que corresponde a un cambio de un 1 % entre la luz incidida antes y después de la absorción: transmitancia.

$$M_c = \frac{V_{\text{iny}} \cdot C \cdot 0,0044}{\text{Abs}}$$

M_c = Masa característica (pg)

V_{iny} = Volumen inyectado de muestra (μL)

Abs = Área integrada del pico de absorbancias (A·s)

C = Concentración del analito en la muestra ($\mu\text{g/L}$)

En el análisis por cámara de grafito es interesante poder expresar la sensibilidad por una magnitud, como la masa característica, que sea independiente del volumen de muestra inyectada (97).

Mientras que se puede predecir la señal de absorbancia por medio de la masa característica, no se obtiene información de cómo de alta tiene que ser la absorbancia para poder diferenciarse del ruido normal. La sensibilidad de un equipo para un determinado analito depende de la relación señal/ruido. La IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), indica que el límite de detección es la más pequeña cantidad de analito que se puede detectarse con una razonable seguridad. Esta definición de la IUPAC implica una ecuación:

$$\text{Abs}_{\text{Límite}} = \text{Abs}_{\text{Blanco}} + k \cdot \sigma_{\text{Blanco}}$$

Donde la señal de absorbancia es “k” veces la desviación estándar del ruido (magnitud de la línea base del ruido) (293) Long y Winefordner, en 1983, indican que un factor de tres, que permite un nivel de confianza del 99,86%, es suficiente para diferenciar la línea base del ruido de una señal determinada, siendo ese factor de tres aceptado por la IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) (39). Para determinar la línea base del ruido se analiza, al menos 20 veces un blanco y se determina la desviación estándar. Tres veces el valor de esta desviación estándar correspondería a una probabilidad del 99,86% de que la señal no corresponda al ruido del aparato. El límite de detección calculado de este modo se denomina, en ETAAS, límite de detección instrumental (460). Con matrices reales la absorción inespecífica puede aumentar la señal del blanco, aunque un corrector de fondo efectivo puede corregir el mismo con un error relativo del 1%, por lo que no afecta en gran medida al límite de detección (460).

Puesto que tratamos de establecer la relación señal/ruido, el límite de detección expresado como masa (m_{LD}), en picogramos, será:

$$m_{\text{LD}} = \frac{\text{Abs}_{\text{LD}} - \text{Abs}_{\text{BLANCO}}}{\text{Sensibilidad}} = \frac{k \cdot \sigma_{\text{BLANCO}}}{\text{Sensibilidad}}$$

$$m_{\text{LD}} = \frac{k \cdot \sigma_{\text{BLANCO}} \cdot M_c}{0,0044}$$

σ_{Blanco} = Desviación estándar del blanco
 k = Número entero
 M_c = Masa característica

Si quisiéramos expresar el límite de detección (LD) en concentración en vez de en picogramos (masa), deberíamos tener en cuenta el volumen de muestra inyectado en el tubo de grafito:

$$m_{LD}(\text{pg}) = V_{\text{Inyeccion}}(\mu\text{L}) \bullet C_{LD}(\mu\text{g/L} = \text{pg}/\mu\text{L}) \rightarrow$$

$$C_{LD}(\mu\text{g/L}) = \frac{k \bullet \sigma_{\text{Blanco}} \bullet Mc(\text{pg})}{V_{\text{Inyeccion}}(\text{mL}) \bullet 0,004}$$

El límite de cuantificación (LQ) se define como el nivel por encima del cual pueden obtenerse resultados cuantitativos con un nivel de confianza específico. El valor recomendado para un nivel de confianza del 99 por 100 el LQ es 10 veces la desviación estándar dividida por la pendiente de la recta de calibrado (97).

Tabla II. 5.- Límites de detección en microgramos por litro determinados en patrones acuosos por 3SD. ETAAS con 50 μL de muestra. Tomado de Perkin Elmer (399)

Elemento	AAS llama	G. Hidruros	ETAAS	ICP Emisión	ICP-MS
Cd	0,8		0,008	1	0,003
Cu	1,5		0,1	0,4	0,003
Pb	15		0,06	10	0,001
Se	100	0,03	0,3	50	0,06
Zn	1,5		0,1	1	0,003
Hg	300	0,009	0,6	1	0,004

2.- TÉCNICAS DE PLASMA

Benito del Castillo, en 1998, define un plasma como “un gas fuertemente ionizado, eléctricamente neutro pero conductor de la corriente, formado por un conjunto de electrones, iones cargados positivamente y átomos y/o moléculas” (113). Se considera al plasma como el cuarto estado de agregación de la materia. Los plasmas pueden estar parcialmente o totalmente ionizados (113). Gran parte del universo se encuentra en estado de plasma, por ejemplo la corona solar, espacios interestelares, etc. (113).

Un plasma se puede establecer en el laboratorio mediante una descarga eléctrica entre dos electrodos situados en un tubo en cuyo interior exista un gas fácilmente ionizable a baja presión (gas plasmógeno). La ionización en el seno del plasma se mantendrá por los continuos choques de los electrones, procedentes de la descarga, con los átomos e iones formados (113).

Teniendo en cuenta las temperaturas que se alcanzan en los plasmas, la energía desprendida va a ser empleada para la excitación de átomos, incrementando el número de elementos del sistema periódico capaces de ser excitados y, por lo tanto, analizados cualitativamente y cuantitativamente (113).

Existen varios tipos de plasmas aunque con diferente utilidad analítica. Los más difundidos son (113):

- DCP Plasma eléctrico de corriente continua
- ICP Plasma de acoplamiento inductivo
- CCP Plasma de acoplamiento inductivo
- MIP Plasma de acoplamiento inductivo de microondas
- CMP Plasma de acoplamiento capacitativo de microondas

2.1.- PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE ÓPTICO (ICP-OES)

Es frecuente que cada elemento presente varias líneas de emisión muy puras, bastando con identificar alguna de ellas para verificar el análisis cualitativo. Para el análisis cuantitativo sería deseable elegir la línea de máxima intensidad, aunque si otro elemento presenta una línea intensa próxima o superpuesta, originaría una interferencia por lo que sería necesario recurrir a otra línea menos intensa (113). Las líneas de emisión son analizadas por un espectrofotómetro que puede situarse perpendicular al plasma, en el modo transversal, o paralelo al plasma, en el modo axial (76).

Se trata de una técnica multielemental en la que, debido a las más elevadas temperaturas que se alcanzan en el plasma con respecto a la llama, presenta menor interferencia entre los elementos y es posible la determinación de elementos que tienden a formar compuestos refractarios, o sea, muy resistentes a la descomposición térmica, lo que le confiere ciertas ventajas con respecto a los métodos de llama y electrotérmicos (487). Además permiten el análisis de elementos no metales como cloro, bromo, yodo y azufre; y tienen mayor sensibilidad (487). Sin embargo, a concentraciones de analito bajas, la emisión de fondo debida a la recombinación de los iones de argón es suficientemente intensa como para requerir correcciones cuidadosas (487).

Las fuentes de plasma acoplado inductivamente proporcionan datos analíticos mucho mejores que otras fuentes de emisión. La calidad de estos resultados radica en la gran estabilidad, bajo ruido poca radiación de fondo y en la ausencia de interferencias de las fuentes, cuando se opera en las condiciones experimentales apropiadas (487). Con frecuencia, la mayor fuente de ruido en un método ICP se origina en la etapa de la introducción de la muestra (487).

Permite la determinación conjunta de Mg, Fe, Cu, Zn y Al en suero, aunque presenta dificultades en la determinación de elementos como Co, Cr, Mn, Pb y Se en suero (96).

En general, y salvo para algún elemento refractario, esta técnica posee una sensibilidad intermedia entre la FAAS y la ETAAS (96).

2.2.- PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE ICP-MS

Esquemáticamente, un ICP-MS se compone de un nebulizador, una “cámara de nebulización o “spray chamber””, una antorcha, una zona de interfase o “interface”, un sistema separador de masas y el detector (515).

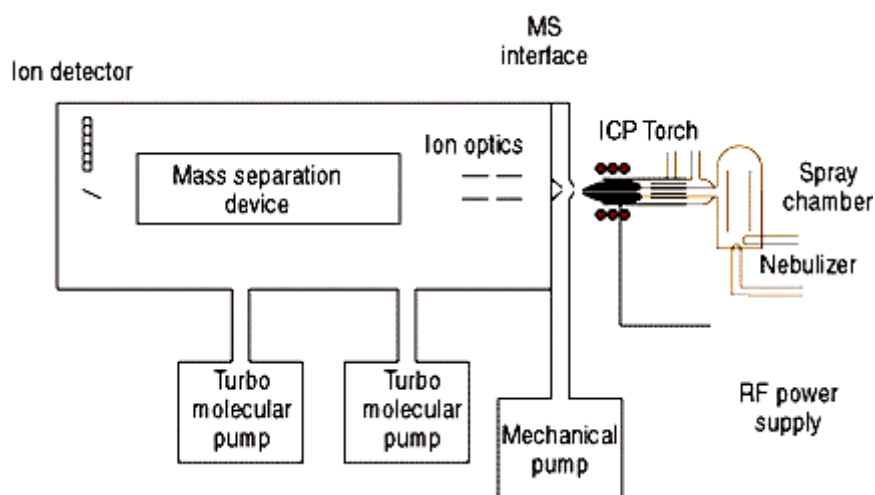


Figura II.9.- Esquema de un ICP-MS. Tomada de Spectroscopy [398](Thomas, 2001).

Sin embargo, es diferente la extracción y el transporte de los aniones que la de los cationes, por lo que la mayoría de los equipos instrumentales no están diseñados para la determinación de aniones (515).

La muestra debe estar en estado líquido, siendo bombeada a 1mL/min (generalmente con una bomba peristáltica) en el nebulizador, donde se produce un fino aerosol por medio de argón (516). Las muestras biológicas son mezcladas con soluciones ácidas o básicas, que mantienen los elementos traza en solución, y un detergente que mantiene constante el flujo de líquido al nebulizador al formar una suspensión más estable (76), aunque la utilización de una bomba peristáltica asegura un flujo constante de muestra independientemente de la viscosidad de la misma (516). Las finas gotas del aerosol, que

representan el 1 ó 2% de la muestra, son separadas de las gotas de mayor tamaño en la cámara de nebulización (“spray chamber”) (516) en función de su peso por simple gravedad, llegando a la antorcha sólo un 1% del aerosol previamente formado (398). Además, la cámara de nebulización, minimiza la entrada por impulsos provocada por la bomba peristáltica (516). El aerosol atraviesa la antorcha (516) donde se ioniza la muestra, para después ser dirigidos al sistema separador de masas por medio de una zona de interfase o “interface region” que se encuentra a 1 o 2 torr de presión por medio de una bomba mecánica (516). Esta región “interface” consiste en dos conos metálicos llamados el “sampler” y el “skimmer”. Cada uno de ellos posee un orificio de 0,6 a 1,2 mm que permiten el paso de los iones a través de una óptica iónica (“ion optics”), donde son guiados dentro del sistema separador de masas (518). La función de estos conos es la de aislar los gases de la parte central del plasma para enriquecerla de iones (398). Para reducir el efecto de la alta temperatura del plasma sobre esta zona, es refrigerada con agua (518).

Cuando la muestra, a gran velocidad, entra en el plasma pasa a través de distintos estados físicos desde la zona de precalentamiento hasta la zona de radiación antes de que se ionice en la zona analítica (517). La muestra, a medida que va atravesando diferentes zonas del plasma, es desecada, vaporizada, atomizada e ionizada (201) (517).

Los nebulizadores diseñados para la ICP-OES no son recomendados para la ICP-MS debido al escaso diámetro de los conos “sampler” y “skimmer” que obligan a que en el aerosol generado no haya más de un 0,2% de sólidos (516).

La muestra se introduce dentro del plasma caliente por el extremo superior de los tubos mediante un flujo de argón de 0,3 a 1,5 L/min a través del tubo de cuarzo central. La muestra puede ser un aerosol, un vapor generado térmicamente o por una chispa, o un polvo fino. El dispositivo que más se utiliza para la inyección de la muestra tiene una construcción semejante a la de los nebulizadores que se emplean en los métodos de llama. En el caso de introducirse un vapor, se utiliza el mismo tipo de hornos utilizados en la ETAAS pero que sólo se utilizan para la pirólisis y vaporización de la muestra y no la atomización (487).

Una fuente de plasma acoplado inductivamente (ICP) o antorcha, consiste en tres tubos concéntricos de cuarzo a través de los cuales fluye una corriente de argón con un caudal comprendido entre 11 y 17 L/min (487) (517) que tiene tres funciones: transportar la muestra problema, actuar como gas plasmógeno y como gas refrigerante (113). El diámetro del tubo más grande es de aproximadamente 2,5 cm (487). El gas utilizado para formar el plasma, generalmente argón, circula entre el tubo exterior y el medio con una velocidad de flujo de 12 a 17 L/min (517). La antorcha de los ICP-MS, algo diferente a la utilizada en ICP-OES, se monta horizontalmente y colocada centrada en la bobina de radiofrecuencias (517).

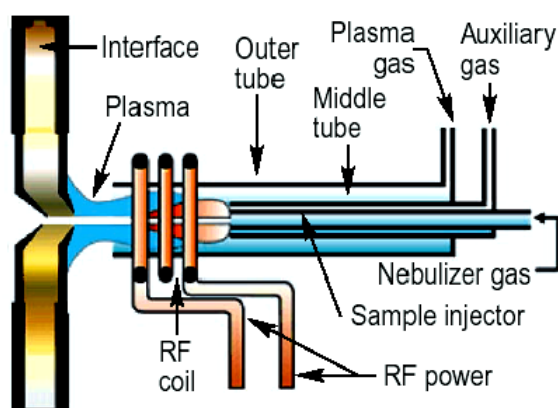


Fig II.10.- Vista detallada de la antorcha. Tomada de *Spectroscopy* [400].

El gas auxiliar, utilizado para cambiar la posición de la base del plasma, se introduce entre el tubo medio y el central con una velocidad de flujo de aproximadamente 1 L/min (517). Un tercer gas, utilizado para transportar la muestra, se introduce por el interior del tubo central a una velocidad de aproximadamente 1 L/min (517). Cuando la muestra es muy corrosiva, se utiliza un tubo interior o tubo inyector de alúmina, platino o zafiro (517). Aunque el argón es el gas más adecuado para los tres flujos, existen ventajas analíticas en la utilización de mezclas de gases, principalmente en el nebulizador (261).

La ionización del argón que fluye se inicia por medio de una chispa que proviene de una (398). Los iones resultantes y sus electrones asociados interaccionan entonces con el campo magnético oscilante que se produce por la bobina de inducción. Esta interacción hace que los iones y los electrones dentro de la bobina se muevan en trayectorias anulares cerradas; el calentamiento óhmico es una consecuencia de la resistencia a este

movimiento. La temperatura del plasma así formado es suficientemente elevada como para hacer necesario el aislamiento térmico del cilindro externo de cuarzo. Para lograr este aislamiento se hace fluir argón en forma tangencial alrededor de las paredes del tubo (487).

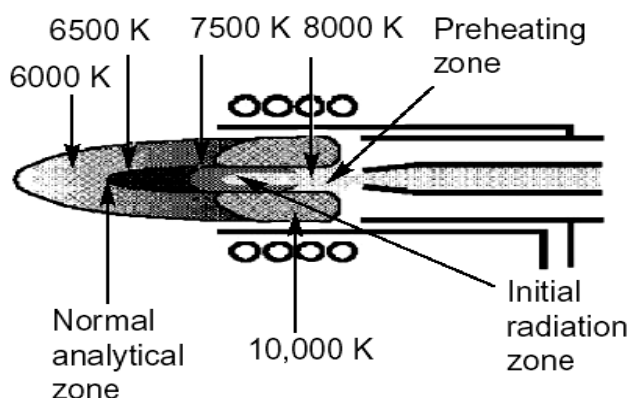


Figura II.11.-. Diferentes zonas de temperatura en el plasma. Tomado de Spectroscopy [400]

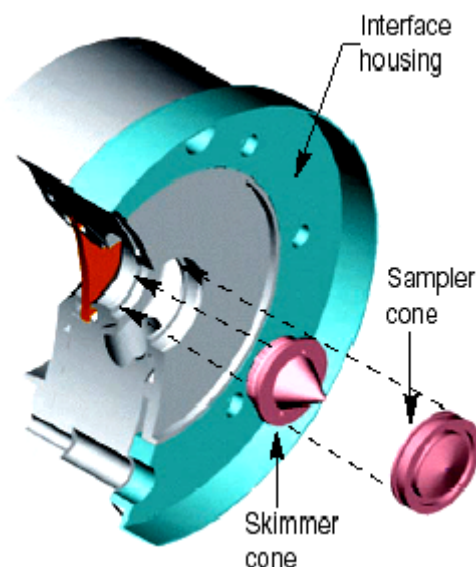
Cuando el campo de radiofrecuencias, normalmente de 750 a 1500W (dependiendo de la muestra), es aplicado a la bobina, una corriente alterna oscila en la bobina a una frecuencia igual a la del generador que, en la mayor parte de los equipos es de 27 MHz o 40 MHz (517). Esta oscilación de la corriente genera un intenso campo magnético en la punta de la antorcha. Se aplica una chispa de alto voltaje cuando fluye el argón para iniciar la ionización (517). Los electrones liberados son acelerados por el campo magnético provocando la ionización de otros átomos en una reacción en cadena, formando lo que se conoce con el nombre de descarga de plasma acoplado inductivamente (517).

La antorcha del plasma juega un diferente papel en la técnica ICP-MS que en la ICP-OES. En ambas técnicas se produce el plasma por interacción de un intenso campo magnético (producido por una radiofrecuencia pasando a través de una espiral (o bobina) de cobre en un flujo tangencial de gas a través de un tubo de cuarzo concéntrico (antorcha). En la técnica ICP-OES el plasma, generalmente orientado verticalmente, se utiliza para generar una emisión de radiación electromagnética provocada por el paso de los átomos en estado excitado a su estado fundamental. En la técnica ICP-MS, el plasma

orientado horizontalmente se utiliza para producir iones cargados positivamente más que una emisión de radiación electromagnética. De hecho, se procura que la emisión de luz no alcance al detector porque incrementarían el ruido instrumental (518).

Rodeando la parte superior de este tubo se encuentra una bobina de inducción refrigerada, antiguamente por agua y más recientemente por el mismo argón (398), alimentada por un generador de radiofrecuencias capaz de producir una potencia de 2kW a unos 27MHz (de 700 a 1500W (53)).

La zona de interfase es una de las zonas más críticas en un espectrómetro de masas de ICP. Su función es ayudar a los iones a ser eficazmente transportados desde el plasma, a 760 torr, a la región del sistema separador de masas, a 10^{-6} torr. Desafortunadamente, hay un acoplamiento capacitativo “capacitative coupling” entre la bobina de radiofrecuencias y el plasma que provoca una diferencia de potencial de unos pocos cientos de voltios. Si ésta no fuera eliminada aparecería una descarga eléctrica entre el plasma y el cono “sampler”. Esta descarga aumenta la formación de especies interferentes, incluyendo especies doblemente cargadas, y afecta dramáticamente a la energía cinética de los iones que entran en el espectrómetro de masas, haciendo errática e impredecible la optimización de la óptica iónica (“ion optics”). Por esta razón, la carga secundaria debe ser eliminada por medio de alguna clase de toma de tierra de la bobina de radiofrecuencias (518).



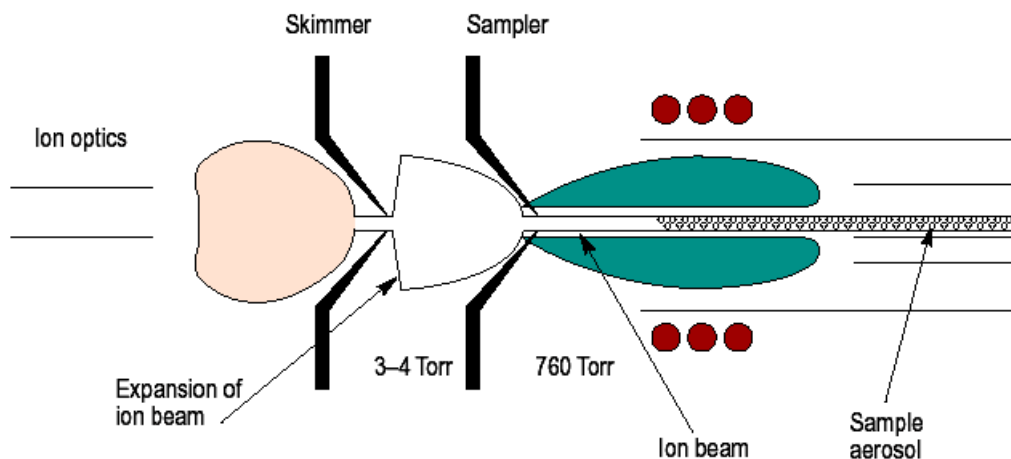


Fig II.12.- Vista de la zona de interfase. Tomada de Spectroscopy [403].

Cuando salen los iones de la zona de interfase son dirigidos dentro de una cámara de vacío por medio de una serie de lentes electrostáticas que se denomina óptica iónica (“ion optics”) (398) (520). El vacío se consigue mediante un sistema de bombas de vacío en cascada que incluye bombas mecánicas, que inician el proceso, y unas bombas turbomoleculares que lo mantienen (76). En esta zona, una bomba turbomolecular mantiene un vacío de 10^{-2} torr (520). Las lentes electrostáticas tienen la función de dirigir los iones hacia el sistema separador de masas impidiendo el paso de fotones, partículas y especies neutras que contribuirían a aumentar los niveles de ruido de fondo e inestabilizar la señal (520).

Los espectros de masas se obtienen por conversión de los componentes de una muestra de iones gaseosos que se mueven rápidamente y se separan en función de su relación masa-carga (486). Los espectrómetros de masas discriminan entre la masa de los isótopos (486).

Durante el proceso de la espectrometría de masas todos los factores permanecen constantes, por lo que la trayectoria de la partícula depende de la relación masa y carga (535).

En el sistema separador se someten a la acción de un potente campo magnético dentro de un vacío elevado para evitar los choques entre fragmentos (535).

Desarrollados en el inicio de los años 80, los analizadores de masas de cuadrupolo constituyen en la actualidad el 90% de los separadores de masas de los ICP-MS (521). El analizador cuadrupolar se caracteriza por no requerir la presencia de un campo magnético estático. Los iones acelerados inciden en dirección del eje central de un conjunto de cuatro varillas metálicas rectas y paralelas entre ellas, conectadas diagonalmente, dos a dos, a los polos de una fuente de potencial de corriente continua y a un oscilador de radiofrecuencias. La selección de masas se obtiene manteniendo fija la frecuencia de la radiofrecuencia y variando los potenciales de la corriente continua y de la radiofrecuencia (535). Según se observa en la figura II.13, de los diferentes iones que llegan al cuadrupolo, cuando se aplica un determinado voltaje, sólo aquellos que tienen una relación carga masa concreta permanecen en una trayectoria helicoidal en el interior del cuadrupolo, mientras que el resto atravesarán los espacios existentes entre las barras del cuadrupolo y serán evacuados del mismo (521).

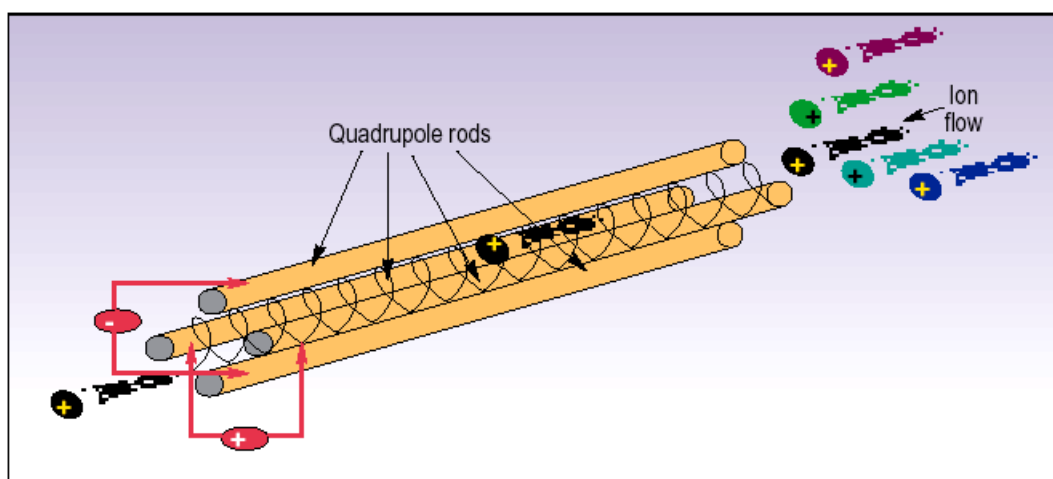


Figura II.13.- Representación esquemática de la acción de un separador de masas de cuadrupolo. Tomada de Spectroscopy [405]

La utilidad analítica de un espectrómetro de masas depende de la llamada resolución del instrumento, o capacidad del mismo para separar dos partículas de diferente masa (535). La resolución de un separador de masas de cuadrupolo depende de una combinación de factores que incluye la forma, diámetro y longitud de las barras, frecuencia de la fuente de alimentación, el vacío de trabajo, los voltajes aplicados y la energía cinética de los iones que entran en el mismo, que afectan a la estabilidad de los iones en el trayecto

interior del cuadrupolo. En teoría, la resolución de un separador de masas de cuadrupolo varía entre 0,3 y 3,0 UMA, sin embargo, una mejor resolución conlleva una pérdida de sensibilidad, como se observa en la figura II.14, en la que se compraran las resoluciones de 3,0; 1,0 y 0,3 analizando la misma masa (521).

Los analizadores de tiempo de vuelo tampoco requieren campo magnético. A diferencia de todos los citados anteriormente, seleccionan los iones en función de su velocidad, la cual depende, a su vez, de su masa. Los iones son acelerados por pulsos de potencial de unos 100 V y del orden de un microsegundo de duración, que se repiten miles de veces por segundo. Los iones adquieren una velocidad que es proporcional a $(e/m)^{1/2}$. El tiempo que cada ión tarda en llegar al detector (tiempo de vuelo) viene dado por:

$T = K (m/e)^{1/2}$ en donde K es una constante que depende de las características del instrumento (535) (e = carga del electrón) (m = masa partícula) (m/e = relación masa carga).

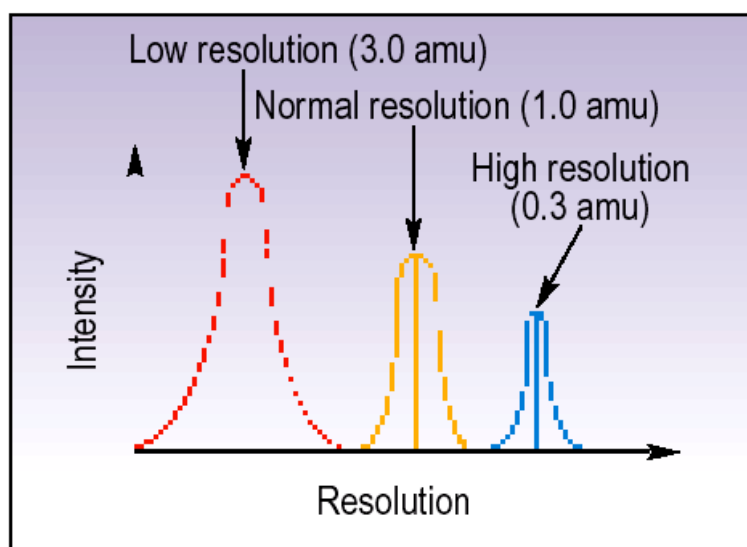


Fig II.14.- Diferente sensibilidad de un cuadrupolo que opera a 3, 1 ó 0,3 UMA de resolución. Tomada de Spectroscopy [405].

Los separadores de masa de cuadrupolo sólo pueden detectar una masa en un momento determinado, por lo que requieren establecer un balance entre el número de elementos a analizar, los límites de detección, la precisión y el tiempo de lectura total. Sin embargo, los separadores de masa de tiempo de vuelo los iones son detectados en el mismo

momento, lo que significa que se puede realizar un análisis multielemental sin ningún deterioro de la calidad (522).

La mayor fuente de ruido en un ICP-MS proviene del parpadeo asociado a la introducción de la muestra a impulsos y la fluctuación del plasma, y la procedente de los fotones, electrones e iones que consiguen llegar al detector. Cuando las cuentas o señal del detector es elevada, la principal fuente de imprecisión la constituye la procedente de la fluctuación o parpadeo. Una de los métodos más efectivos para compensar ésta es la introducción de un estándar interno. Los separadores de masa por tiempo de vuelo tienen la ventaja de detectar el estándar interno y los analitos al mismo tiempo, asegurando una mejor corrección de las interferencias (522)

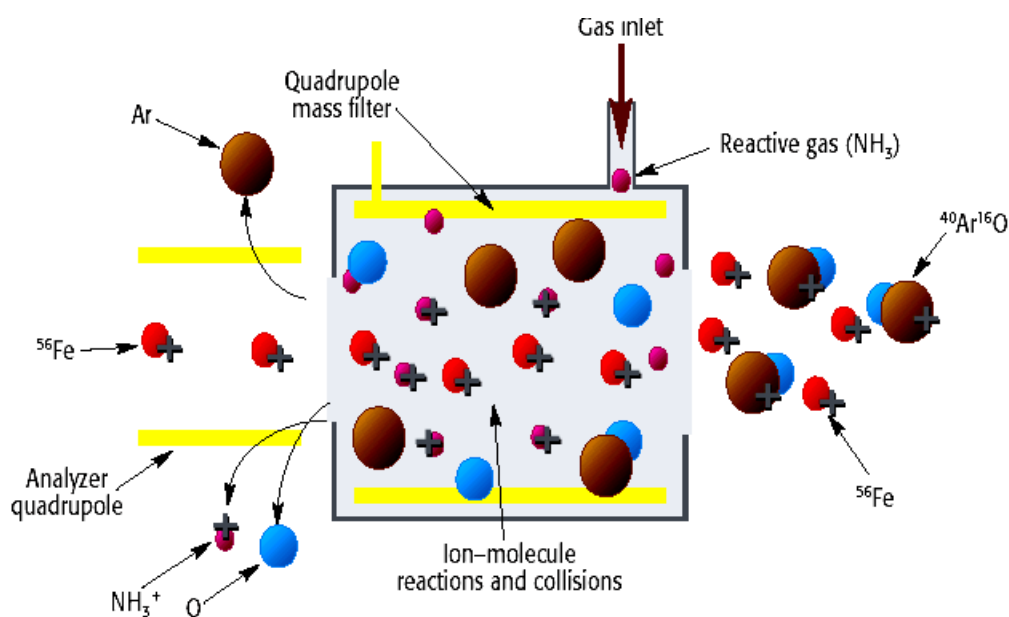


Figura II.15.-- Eliminación de la interferencia de ArO con una célula de reacción dinámica. Tomado de Spectroscopy [406](Thomas, 2002)

En el sistema separador de masas una segunda bomba turbomolecular mantiene un vacío de trabajo de aproximadamente 10^{-6} torr (398). El sistema separador de masas tiene la función de discriminar el paso de los iones según su relación carga/masa. dependiendo del diseño del sistema separador de masas, los iones llegarán secuencialmente o simultáneamente el detector (521)

Para hacer un vacío previo, sin el cual no podrían funcionar las dos bombas turbomoleculares, se utiliza una bomba mecánica (398).

Existen cuatro tipos de interferencias en un ICP-MS (76):

- isotópica, cuando existen isótopos de dos elementos con la misma relación carga/masa, como, por ejemplo, $^{58}\text{Fe}^+$ (57,9333) y $^{58}\text{Ni}^+$ (57,9353), que puede ser evitada con una adecuada selección de isótopo a analizar.
- isobárica, producida por moléculas (óxidos, haluros, etc.), como, por ejemplo, $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$ con ^{51}V , o $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$ con ^{52}Cr , o $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$ con ^{80}Se , que se pueden evitar con la introducción de pequeñas cantidades de disolventes orgánicos en el plasma o la utilización de vaporización electrotérmica. Está muy reducida en masas superiores a 82.
- iones con doble carga, más fácilmente existente con elementos de bajo potencial de ionización como el calcio, bario y lantánidos. De esta manera, el $^{48}\text{Ca}^{2+}$ interfiere con el $^{24}\text{Mg}^+$
- efecto matriz, que suele provocar disminución de la señal al repelerse iones en el haz procedente del plasma. De esta manera, cuando la concentración de un elemento es muy elevada, puede provocar una baja sensibilidad. Puede ser evitada variando la matriz o con una adecuada selección de la potencia de las lentes iónicas

Hay elementos con altos límites de detección por tener interferencias con especies poliatómicas de misma masa formadas por elementos procedentes de la muestra o el mismo gas argón, como, por ejemplo, $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$ en la determinación de ^{56}Fe , ^{38}ArH en la determinación de ^{39}K , $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$ en la determinación de ^{80}Se (519). En el caso de muestras biológicas, las interferencias derivadas de la utilización de argón afectan, principalmente, a la determinación de calcio, hierro, arsénico y selenio (461). Para evitar estas interferencias se utiliza una célula de reacción diseñada originalmente en espectrometría de masas para confirmar la estructura de la molécula origen por medio de la formación de nuevas especies por ionización química (486). Uno de las técnicas utilizadas en ICP-MS que tienen este fundamento es la “célula de reacción dinámica” (Dynamic Reaction Cell) (DRC) en las que un gas reactivo, como amoníaco o metano, se introduce en la célula de reacción situada entre la óptica iónica (“ion optics”) y el

separador de masas (519). Como se observa en la figura II.15, el gas NH_3 reacciona con $^{16}\text{O}^{40}\text{Ar}^+$ para formar argón y oxígeno atómicos y el Ion positivo de NH_3 de esta manera, el ^{56}Fe se verá libre de interferencias (519). La célula de reacción dinámica aprovecha las diferentes velocidades de reacción del analito y las especies interferentes. Como se puede observar en la figura II.16, en el caso de la interferencia ^{40}Ar y ^{40}Ca , el potencial de ionización del NH_3 (10,2 eV) es inferior al del argón (15,8 eV), por lo que la reacción de ionización de NH_3 al chocar con Ar^+ es exotérmica y rápida. Por el contrario la reacción de ionización del amoniaco al chocar con el Ca^+ (6,1 eV) es endotérmica y no se produce (519).

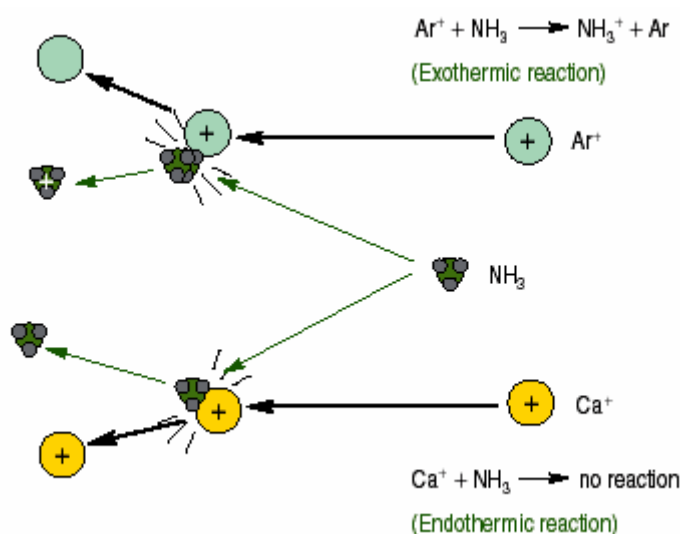


Figura II.16.- La reacción entre el NH_3 y el Ar^+ es exotérmica mientras que no se produce reacción entre NH_3 y el Ca^+ . Tomada de Spectroscopy [407](Thomas, 2002).

Optimizando los campos eléctricos del cuadrupolo de la célula de reacción dinámica se impiden reacciones indeseables entre el gas y la muestra o el solvente (519).

Finalmente, un detector de iones convertirá la llegada de los iones en señal eléctrica (515). El diseño más frecuente es el de un dínodo. Los modelos con cuadruplos como separadores de masas utilizan un único detector mientras que los equipos con analizador de sector magnético, más especializados en determinar la relación isotópica, poseen detectores múltiples (515). Para Rodushkin y Odman los equipos con sector magnético eliminan parte de las interferencias al tener una mayor resolución, además de tener menos efecto matriz (431).

La técnica ICP-MS tiene unos límites de detección unos tres o cuatro órdenes de magnitud superiores a los de la técnica ICP-OES (515).

Se pueden obtener elevadas resoluciones, de hasta 0,0001 UMA, con la utilización de un separador de masas de doble enfoque, con la aplicación sucesiva de un campo eléctrico y otro magnético, aunque el precio de un equipo de estas características es bastante elevado (76).

Los ICP-MS no realizan un análisis multielemental simultáneo, aunque al utilizar fracciones de segundo en leer varias líneas espectrales, permite un análisis secuencial de todo el espectro en un espacio de tiempo muy corto además de permitir la posibilidad de utilizar patrón interno para mejorar la precisión (76).

3.- ACTIVACIÓN NEUTRÓNICA

Los métodos de activación neutrónica (NAA) se basan en la medida de la radiactividad que ha sido inducida en las muestras por irradiación con neutrones por medio de una fuente de neutrones como los reactores, los radionúclidos y los aceleradores (489). Al contrario que las técnicas de espectroscopía de absorción y emisión atómica, la NAA supone la excitación del núcleo atómico más que de los electrones, por lo que el elemento traza es determinado independientemente de su estado físico o químico (76). Los átomos de oxígeno, carbono, nitrógeno e hidrógeno muestran poca actividad después de la irradiación de neutrones por lo que no suponen el problema de interferencias que pueden producir elementos como el sodio, el potasio y el cloro, para los que, a veces, es necesaria la corrección de fondo (76).

La activación neutrónica instrumental (INAA) conlleva la medida directa de la radiación X o γ emitida por los núcleos. Para los elementos que no pueden ser analizados por INAA por interferencias de la matriz, se utiliza la activación neutrónica radioquímica (RANA), en la que la muestra es tratada químicamente, por digestión ácida, extracción, intercambio iónico o cromatografía (76).

Las técnicas de activación neutrónica ofrecen la ventaja de una alta sensibilidad y de ser, a menudo, técnicas no destructivas (76) (489). Las principales desventajas son la necesidad de equipos grandes y caros, requerimientos especiales para la manipulación y disposición de materiales radioactivos (489), además de la dificultad de corregir las emisiones de fondo en determinadas matrices (76).

III.- MERCURIO

El mercurio tiene una masa atómica relativa de 200,61, un punto de ebullición de 356,90 °C y temperatura de solidificación de -38,87°C (371). Se puede encontrar en tres estados de oxidación Hg^0 (metálico), Hg^{2+}_2 (mercuroso) y Hg^{2+} (mercúrico). Las formas mercuriosa y mercúrica pueden formar numerosos compuestos inorgánicos y orgánicos. Los compuestos orgánicos son aquellos en los que el mercurio está unido covalentemente, al menos, a un átomo de carbono (383).

En su forma elemental, el mercurio a temperatura ambiente es un líquido plateado de alta densidad. A 20°C su peso específico es 13,456 g/mL y la presión de vapor 0,16 Pa (0,0012 mmHg). Aunque su presión de vapor es muy inferior a la del agua (17,54 mmHg a 20°C) o la del alcohol etílico (44 mmHg a 20°C), un ambiente saturado de mercurio a 20°C tiene aproximadamente 15 mg Hg/m^3 , que es más de 200 veces superior a la actualmente aceptada para una exposición laboral (383). Como se observa en la Tabla III.1 La presión de vapor y, por lo tanto, la concentración de un ambiente saturado de mercurio varía en función de la temperatura (371)

Tabla III.1.- Presiones de vapor y concentraciones en atmósfera saturada de mercurio. Tomada de (371)

<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Presión de Vapor (torr)</i>	<i>Concentración de mercurio (mg/m³)</i>
0	0,000185	2,18
10	0,000490	5,88
20	0,001201	13,20
24	0,001691	18,30
28	0,002359	25,20
30	0,002777	29,50
32	0,003236	34,40
36	0,004471	46,60
40	0,006079	62,60

Tiene especial interés que otras formas de mercurio, como metil y etil derivados, tengan unas presiones de vapor apreciables a temperatura ambiente. Así la presión de vapor del cloruro de metilmercurio es 1,13 Pa (0,0085 mmHg) y la del dimetilmercurio varias veces más grande. (383).

Los compuestos de mercurio difieren mucho en sus solubilidades. La solubilidad en agua se incrementa en el siguiente orden:

- cloruro mercurioso
- mercurio elemental
- cloruro de metilmercurio
- cloruro mercúrico

Ciertas especies de mercurio son solubles en disolventes apolares, dentro de los que se incluye mercurio elemental y los alquil mercurios (383)

El término genérico metilmercurio se utiliza para representar todos los compuestos de monometilmercurio. En muchos casos, la exacta composición de estos compuestos no es conocida a excepción de que el catión CH_3Hg^+ está asociado con un simple anión como el cloruro o con una molécula grande, como una proteína por ejemplo. (383). La solubilidad de los compuestos de metilmercurio en agua varía mucho con la naturaleza del anión. La mayor parte son solubles en agua y mucho menos solubles en disolventes no polares (383). Generalmente tienen una apreciable presión de vapor a temperatura ambiente (383).

Desde el punto de vista bioquímico, la propiedad química más importante de los compuestos de mercurio, es su alta afinidad por los grupos SH (383).

1.- USOS Y FUENTES DE EXPOSICIÓN

Las fuentes naturales de mayor importancia son la desgasificación natural de la corteza terrestre, las emisiones volcánicas y la evaporación de las masas acuáticas naturales (51) (381). Se estima que las emisiones naturales alcanzan las 2.700 a 6.000 toneladas por año (381). La corteza terrestre es también una fuente importante de mercurio para las aguas. Parte de este mercurio tiene, indudablemente, un origen natural, pero otra parte puede haber sido depositado a partir de la atmósfera y estar relacionado con actividades humanas (383). Por lo tanto, es difícil evaluar la proporción de mercurio antropogénico en las aguas (383).

Mientras que la concentración de mercurio en los minerales de la corteza terrestre que no son de mercurio (granitos, feldespatos y arcillas) es generalmente menor de 10 ng/g (109), los niveles en suelos y sedimentos “mercuríferos” en áreas sin un impacto directo del ser humano o emisiones volcánicas, varían de 50 a 200 ng/g, elevándose con la proximidad a las áreas urbanas (109). Estos niveles de mercurio pueden ser debidos al transporte y vertido humano durante los últimos 300 años (48) (315), lo que representa de 3 a 5 veces más alto que el que se presume sería el fondo preindustrial (109). Durante los últimos cien años, la concentración de mercurio en suelos, agua y sedimento de los lagos, ha aumentado en un factor que varía desde 2 a 7 (130). La acidificación, natural o procedente de la lluvia ácida, aumenta la formación bacteriana de metilmercurio (68), por lo que la contaminación atmosférica y la lluvia ácida han incrementado los niveles de mercurio en aguas naturales y animales de su entorno (581). Aunque en países como Suecia, la utilización y el vertido de amalgamas dentales ha descendido drásticamente en las últimas décadas, la concentración de mercurio en lagos, ríos y suelos sigue aumentando, pudiéndose encontrar un 12 % de lagos con una concentración en peces superior a 1 mg/kg (130).

La cesión por parte del hombre a la atmósfera se cifra en aproximadamente 2000 a 3000 toneladas por año, por lo tanto, menor que la emisión natural (383), constituyendo hasta

un tercio del total (51). Aún así, las emisiones humanas constituyen un riesgo de alta toxicidad en áreas confinadas, como ocurrió en la bahía de Minamata y el río Agano en Japón y la del pan contaminado en Irak (383).

Suele encontrarse en la atmósfera, por ser un metal de alta presión de vapor, fundamentalmente en zonas donde existen depósitos de cinabrio (476), puesto que el cinabrio libera espontáneamente mercurio metálico, principalmente bajo la acción de la luz (259). La concentración en el aire es mínima en los océanos (476). También la combustión de combustibles fósiles (carbón, petróleo y gas natural) libera trazas de mercurio a la atmósfera (51) (383) (476), así como la producción de cemento, fundición de menas de sulfuros y la incineración de basuras (383). La ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) de EE.UU., estableció los límites permitidos de exposición por vía inhalatoria para la población en $0,3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (8), cifra admitida por la Environmental Protection Agency (EPA) de los EE.UU. como concentración de referencia (RfC), por lo que estima que la inhalación de esa concentración o menos, durante toda la vida, supondría una baja probabilidad de efectos tóxicos no cancerígenos, aunque la inhalación de concentraciones superiores no implica que se produzca un efecto tóxico (530).

Comercialmente, las formas mineralógicas mayoritarias son el cinabrio (HgS rojo), de estructura cristalográfica hexagonal, y el metacinabrio (HgS negro), con estructura cristalográfica cúbica (65). El enriquecimiento del cinabrio y del metacinabrio requiere el tostado del mineral a $330\text{-}400^\circ\text{C}$ para formar el óxido, el cual se descompone formando mercurio elemental y oxígeno al seguir calentando a 500°C . El vapor de mercurio resultante se recupera por condensación (106). Actualmente, en EE.UU. no hay minas cuyo producto primario sea el mercurio (529). Más de 100 minas operaron en Nevada, una de las cuales produjo mercurio hasta 1990 (109). El 90% de la producción de mercurio en la Unión Europea se realiza en las minas de Almadén (383). Se estima que la extracción minera del mercurio produce en todo el mundo alrededor de 10.000 toneladas/año (381). Estas actividades originan ciertas pérdidas de mercurio y descargas directas a la atmósfera (381). En Almadén es habitual una concentración de $1 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ en aire. Incluso a distancias de 5 a 10 Km de la fuente de emisión de mercurio, se observan niveles de mercurio en aire de $0,05$ a $0,1 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ (153).

El metilmercurio medioambiental procede en su mayor parte, si no en su totalidad, de la metilación del mercurio inorgánico (383). El calentamiento y el incremento de la radiación ultravioleta pueden afectar a la formación y degradación del metilmercurio en medios ambientales bióticos y abióticos, aumentando los niveles de exposición en la población general (94).

Otras fuentes antropogénicas importantes son la utilización de combustibles fósiles, la fundición de metales con minerales de sulfuro, el refinado del oro, la producción de cemento, la incineración de desechos y las aplicaciones industriales de los metales (381). En el Brasil, en la región del Amazonas, la minería del oro está provocando una contaminación del ecosistema (392).

Se emplea en la preparación de zinc amalgamado para pilas eléctricas, en la fabricación y reparación de acumuladores eléctricos de mercurio (163), termómetros, barómetros, bombas de mercurio, lámparas de incandescencia, lámparas radiofónicas, tubos radiográficos, rectificadores de corriente y otros aparatos similares (163), tubos fluorescentes, termostatos, trompas de vacío (259) (383).

El sulfato de mercurio se utiliza como catalizador en la síntesis de ácido acético (163) (259), cloruro de vinilo y metil-estireno (259).

El cloruro de mercurio o sublimado corrosivo, precipita las proteínas y se usa como conservante de tejidos (259). Se utiliza en algunos procesos de taxidermia, en la fabricación de seda artificial y en ciertos trabajos de laboratorio fotográfico (163). El nitrato de mercurio se utilizó (68) en la preparación y tratamiento del pelo en pieles y materias análogas para la preparación de fieltros (163) (250), lo que hacía a los sombrereros susceptibles de sufrir toxicidad al mercurio (215), lo que podría haber inspirado a Lewis Carroll, autor de Alicia en el País de las maravillas, en la creación del personaje el “sombrero loco” (“mad hatter”) (68).

Se utiliza en la fabricación de pigmentos y pinturas anticorrosivas (163) (383), por sus propiedades fungicidas, bactericidas y para prolongar su duración (381) (581). En junio

de 1990 la Agencia de Protección de Medio Ambiente de EEUU eliminó su uso como aditivo en las pinturas de uso doméstico (10), por haber sido destacada la posible liberación de mercurio a partir de las mismas por varios autores (381). Agocs et al, en 1990, compararon las concentraciones en aire de edificios pintados con pinturas con una concentración media de mercurio de 754 mg/L con otros edificios con pinturas sin mercurio observando una mayor concentración en los primeros (10). Así mismo, las concentraciones urinarias de las 65 personas expuestas en los edificios con pinturas de mercurio tenían una concentración de mercurio urinario significativamente ($p<0,001$) superior (8,4 µg/g creatinina (2,5-118 µg/g)) a 19 personas no expuestas (1,9 µg/g creatinina (rango desde 0,04 a 7)).

Se utiliza para la fabricación de cebos de fulminato de mercurio y fuegos artificiales (163). El fulminato de mercurio es un detonante fácilmente absorbible y cáustico irritante (259).

Se utiliza en la preparación de fungicidas para la conservación de los granos (163) (383) y también para evitar la proliferación de limo en la pasta de papel (163). Los compuestos de mercurio que se fabrican con fines agrícolas pasan al medio ambiente cuando se aplican en forma de fungicidas sobre semillas, raíces, bulbos o la misma planta (581).

Se emplea en el tratamiento de minerales auríferos (163) (383) y argentíferos (163), para la extracción de oro y plata por formación de amalgamas (259). La utilización indiscriminada de este metal en la extracción de oro, en la cuenca del Amazonas (Brasil) (56), se refleja en unos niveles elevados de mercurio en sangre y orina de residentes en la zona (392), con signos y síntomas de intoxicación (17). De Kom et al, en 1998, encuentran una concentración media de mercurio en orina de 27 µg/g CR (SD=21,1 N=28) en 28 mineros de Brasil (111). El reciclado de artículos de oro puede causar un serio impacto en la salud (381).

Se utiliza en la electrolisis de los cloruros de álcalis (163) (383), como cátodo para producir hidróxido sódico y cloro (método Castner-Keller) (259). Tanto el cloro y la sosa son productos químicos pesados (de gran producción), por lo que el proceso de Castner-Keller y sus diversas variedades son la fuente de contaminación y exposición industrial

por mercurio más relevantes (259), utilizándose del orden de 10 toneladas de mercurio líquido en cada planta (383). La emisión normal específica de las industrias de compuestos alcalinos del cloro es de aproximadamente 450 g. de mercurio por tonelada de sosa caústica producida (381). Como los compuestos químicos resultantes quedan contaminados con mercurio, su utilización en otras actividades industriales origina la contaminación de otros productos (381).

En la industria farmacéutica su uso es casi histórico: preparación de calomelanos (259) (163), mercurocromo, diuréticos mercuriales, etc. (163). El mercurio se utilizó también como fármaco en el tratamiento de enfermedades como la sífilis y el estreñimiento (581).

El mercurocromo o merbromina, mercurófén, timerfonato sódico y timerosal son fármacos antisépticos (259). Diversos compuestos de mercurio se han utilizado como antisépticos hasta hace poco como el óxido de mercurio, el cloruro de mercurio y el ioduro de mercurio (99). La merbromina, el cianuro de mercurio y diversos excipientes derivados orgánicos de mercurio se utilizan todavía en España como antisépticos (99), existiendo casos de toxicidad al mercurio por aplicación tópica (500) e ingestión de merbromina (303).

Hoy en día, en culturas orientales y en la práctica homeopática, se utiliza para el tratamiento de afecciones de piel (eczemas, dermatitis), con dudosos resultados y demostrada toxicidad en aquellos pacientes que utilizan compuestos de sulfuro o cloruro de mercurio con estos fines (243) (472).

Algunas personas de piel oscura utilizan cremas y jabones que contienen mercurio para conseguir un tono de piel más claro (381). La distribución de esos productos está actualmente prohibida en la Unión Europea, en América del Norte y en muchos países africanos, pero en varios países europeos se sigue fabricando jabón con mercurio (381). Estos jabones contienen hasta un 3% de ioduro de mercurio y las cremas contienen mercurio amoniacal (hasta un 10%) (381). El uso de jabón y cremas para aclarar la piel puede ser origen de una importante exposición al mercurio (381), más cuando la aplicación de estas cremas y jabones se realiza por la noche dejando actuar los mismos durante toda la noche, existiendo también la posibilidad de inhalación del mercurio

(381). No existen datos que concedan mayor o menor importancia a una vía de penetración u otra, pero las evidencias indican que existe una importante exposición al mercurio procedente de estas vías de penetración en estos casos (381). Barr et al, en 1973 (28) observan una concentración urinaria media de mercurio de 109 g/L (intervalo de 0 a 220) en 60 mujeres africanas que habían estado utilizando cremas blanqueadoras de piel con un 5 a 10% de mercurio, existiendo un subgrupo de 26 mujeres con síndrome nefrótico con una concentración urinaria media de 150 µg/L (intervalo de 90 a 250 µg/L). McRill et al, en 2000, en un estudio de mercurio urinario en 89 mujeres que habían utilizado una crema de belleza con mercurio, encuentran que 66 tenían unos niveles de mercurio urinario superior a 20 µg/L. La concentración media de mercurio urinario descendió desde 170 µg/L hasta 32 µg/L al cabo de 139 días. No se observaron alteraciones de la salud en las mismas (322). Dentro de un estudio de vigilancia epidemiológica para el personal odontológico de Medellín, Colombia, se encontraron 21 casos de mercurio en orina por encima del índice de exposición biológica, 35 µg/g CR, debido a la utilización de cremas cosméticas con contenido de mercurio entre el 1,7% y el 7,0%, asociados, en algunos casos, con sintomatología de intoxicación mercurial (295).

Cualquier preparado mercurial puede desencadenar una glomerulonefritis membranosa en pacientes susceptibles (259). El trastorno renal mejora o desaparece al cesar la absorción del tóxico (259)

1.1.- EMPASTES DENTALES

La utilización de la amalgama de mercurio en la práctica odontológica en Europa data de los comienzos del siglo XIX, alcanzando un uso más importante en los EE.UU. a mediados del citado siglo, por su flexibilidad, maleabilidad y bajo coste (556).

La mayor parte de las amalgamas odontológicas de plata para la obturación de dientes contienen grandes cantidades de mercurio, mezclado (en proporción 1:1) con polvo de aleación, consistente en un 70% de plata, 25% estaño, 1-6% cobre y 0-2% zinc (381). Se utiliza también una amalgama de plata con una cantidad de cobre de hasta el 25% (381).

La amalgama comienza a establecerse a los pocos minutos por lo que necesita que se la de forma en ese periodo de tiempo. Se puede pulir después de 24 horas pero la amalgama continúa endureciéndose durante meses (5) (142).

La amalgama de cobre, que se utilizaba hasta hace unas décadas sobre todo en odontología pediátrica, contiene hasta el 70% de mercurio y hasta el 30% de cobre y era preparada por calentamiento al aire libre. Tiene una plasticidad inicial mayor que la amalgama de plata y se observaba con facilidad una disolución de la misma con el tiempo, aunque esto último era considerado una ventaja por el efecto bactericida que lleva asociado (381).

Stock en 1939 ya mencionaba la liberación de mercurio a partir de las amalgamas dentales (381). Durante el periodo de 1926 a 1946, el químico alemán Alfred Stock publicó alrededor de 50 artículos sobre el mercurio y sus efectos sobre la salud concluyendo que el uso de las amalgamas de mercurio en odontología era un crimen contra la humanidad (556). Fleischmann, el director del centro creado en Alemania, a partir de las publicaciones de Stock, para investigar los efectos adversos de los empastes de amalgama, recomienda que la amalgama sea sustituida por otro material, aduciendo razones de salud principalmente en el personal de odontología, aparte de los efectos adversos sobre los portadores de empastes de amalgama (556). El debate se interrumpió durante la segunda guerra mundial reapareciendo en los años 80 a raíz de diversas publicaciones que mostraban la emisión de vapor de mercurio a partir de los empastes de amalgama (556).

Frykholm en 1957, utilizando un trazador radiactivo de mercurio, comprobó que las concentraciones de mercurio en orina y heces se hallaban incrementadas en personas con empastes de amalgama, con dos picos de concentración máximos, tanto en orina como en heces, a los 1-2 días de su inserción y su retirada (381). La preocupación en el

uso de amalgamas se ha incrementado desde que se ha comprobado la liberación, entre otros elementos, de mercurio in vitro (60) (58), en gran parte como pequeñas partículas de amalgama desprendidas (61) de las que un 7% son fácilmente reducibles y susceptibles de absorción (140). Se ha demostrado que el mercurio se libera en la boca en forma de vapor desde los empastes de amalgama (381), habiéndose observado la presencia de vapor de mercurio tanto en la cavidad bucal como en el aliento de sujetos con amalgamas dentales (497) (480).

La emisión de vapor de mercurio procedente de los empastes de amalgama ha sido detectada en el transcurso de su colocación o remoción y durante la masticación y el desgaste (509) (540) (541) (495) (43). Tanto el paciente como el dentista se encuentran expuestos al mercurio durante la remoción del empaste (61). También, pequeñas partículas pueden ser embebidas en los tejidos blandos de la boca durante las implantaciones (497). Después de una retirada de empastes de amalgama existe un incremento del mercurio en la orina (376), con un 50 % de aumento (330) y del mercurio sanguíneo (330) (495).

Incluso, después de 60 días de la remoción de todos los empastes de amalgama, se observan niveles elevados de mercurio en la saliva que correlacionan con el número de empastes antes de su remoción (47), lo que indica que el vapor de mercurio procedente de las amalgamas no es la mayor fuente de mercurio en la saliva, pudiendo proceder de la excreción de las glándulas salivares, de la disolución local de las amalgamas y de la descamación de las células epiteliales de la mucosa oral (129).

La tasa de liberación de este vapor de mercurio aumenta, por ejemplo, al masticar (381) (448), llegando a duplicarse y aumentando con la temperatura (46).

Vimy y Lorscheider, en 1985, (541) observaron que la velocidad de liberación de mercurio se eleva rápidamente cuando la amalgama es estimulada por masticación continua, alcanzando una meseta a los 10 minutos; una vez que finaliza la estimulación, pasan 90 minutos hasta que la velocidad de liberación de mercurio recupera su valor inicial (ver figura III.1).

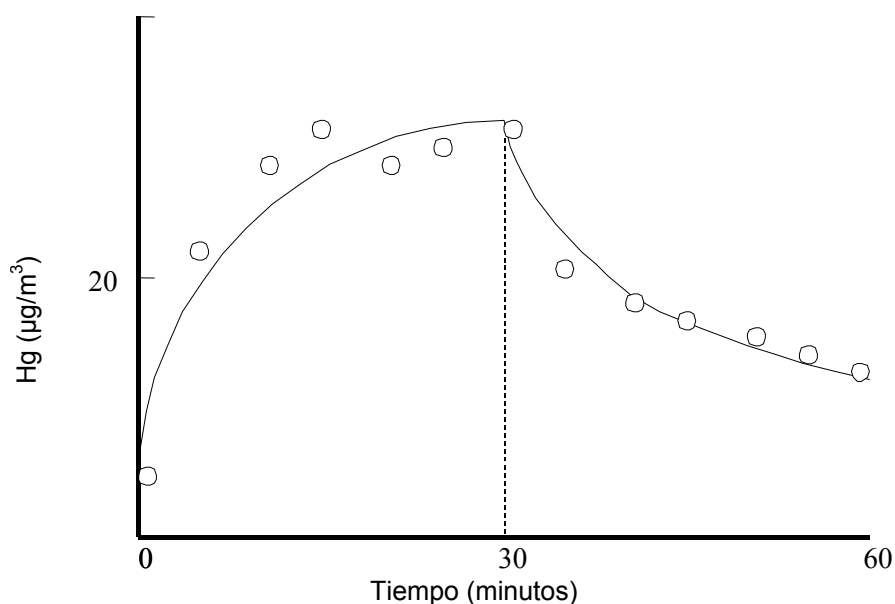


Figura III.1.- Concentraciones medias de mercurio en el aire intra-oral durante la masticación, seguida de 30 minutos sin estimulación, en 35 personas con empastes de amalgama, elegidas al azar. Tomado de Vimy y Lorscheider (1985) [102]

El mercurio liberado en la boca in vivo conlleva un incremento de la incorporación de mercurio en los tejidos corporales (3) (23) (42) (167) (263) (361) (363) (395) (509) (540) (541) (542).

De las autopsias realizadas en sujetos no expuestos profesionalmente pero con un número variable de obturaciones con amalgama, se desprende que un número moderado (alrededor de 25) de superficies de amalgama pueden, en promedio, aumentar la concentración de mercurio en el cerebro en unos 10 µg/Kg (381). El aumento correspondiente en el riñón, basado en un número muy limitado de análisis, es probablemente de 300-400 µg/kg (381). Sin embargo, la variación individual es considerable (381).

Se ha observado, in vitro, la metilación, en cierta medida, del mercurio inorgánico y del procedente de polvo de amalgama por medio de las bacterias de la flora bucal, por lo que pueden formarse compuestos orgánicos de mercurio en la cavidad oral (203). Parte del mercurio metálico procedente de las amalgamas se oxida a mercurio inorgánico (281).

La excreción urinaria de mercurio estimulada por el sulfonato de dimecaptopropano (DMPS), para una mejor estimación de la carga corporal, se encuentra significativamente correlacionada con el número de empastes de amalgama (168).

Como se observa en la Tabla III.2, varios trabajos correlacionan el número de empastes dentales de amalgama con el contenido de mercurio en cerebro y riñón en autopsias.

Tabla III.2.- Concentración de mercurio en el cuerpo según haya empastes de amalgama o no.

	<i>sin empastes (ng/g)</i>	<i>con empastes (ng/g)</i>	<i>Autor</i>
Corteza lóbulo occipital	6,7 (2,4-12,2)	12,3 (4,8-28,7)	(363) Nylander et al, 1987
Sustancia gris	6,7 (1,9-22,1)	15,2 (3,0-121,4)	(127) Eggleston y Nylander 1987
Sustancia blanca	3,8 (1,4-7,1)	11,2 (1,7-110,1)	(127) Eggleston y Nylander 1987
Riñón	49 (21-105)	433 (48-810)	(363) Nylander et al, 1987

Mientras que en la sangre total y en el pelo los niveles de mercurio dependen, principalmente, de la ingesta de pescado, la fuente de variación en orina parece ser la exposición a partir de los empastes de amalgama (121) (234) (263) (264) (381) (526) (ver figura III.2).

Mediante estudio de la concentración de mercurio en sangre de pacientes antes y después de extraerlas se encuentra, en todos los casos estudiados, una disminución significativa de dicha concentración (497).

Distintos grupos de trabajo no encuentran diferencia entre concentraciones de mercurio en sangre de sujetos con amalgamas y sin ella (78) (121) (234) (485), mientras que otros autores hallan diferencias notables (16) (246) (497).

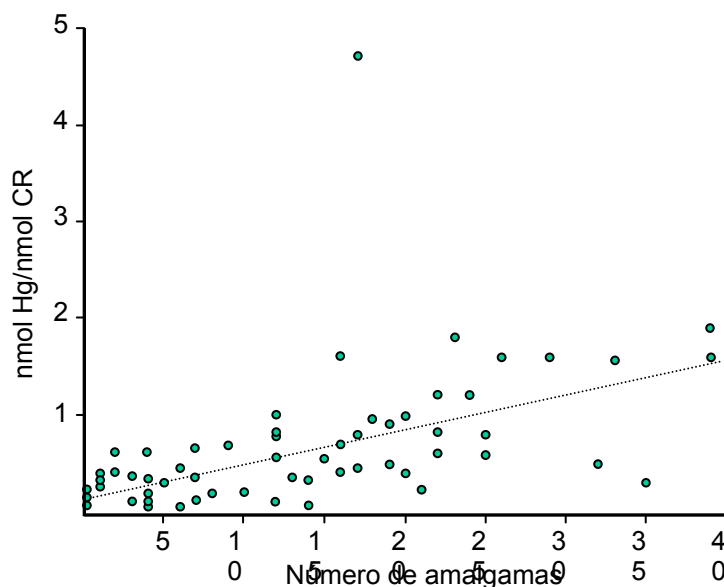


Figura III.2.- Concentración de mercurio en orina, ajustada con creatinina, en relación al número de empastes dentales de amalgama. La línea representa la recta de regresión lineal (coeficiente de relación=0,55). Tomado de OMS, 1991.

Snapp et al, en 1989 (495), analizaron los niveles de mercurio antes y 12 meses después de la remoción de los empastes de amalgama, encontrando que 9 de los diez sujetos examinados presentaban una disminución estadísticamente significativa en la concentración de mercurio sanguíneo (1,13" 0,6 ng/ml).

Molin et al, en 1990 analizaron la concentración de mercurio en plasma, eritrocitos y orina de personas antes y hasta doce meses después de la retirada de empastes de amalgama y su reemplazamiento con empastes de aleaciones de oro, observando que existía un aumento inicial en todos los medios biológicos estudiados después de la retirada del empaste y un marcado descenso en plasma y eritrocitos después de aproximadamente tres meses de la misma. La reducción en orina fue continua, estabilizándose aproximadamente con un 25% de la concentración de mercurio antes de la retirada de la amalgama (330). Begerow et al, en 1994, encuentran resultados similares a los obtenidos por Molin, sacando la conclusión de que, aproximadamente, un 80% del mercurio urinario, en personas laboralmente no expuestas, procede de la liberación de las amalgamas dentales (40). Sandborgh-Englund et al, en 1998, también observan un incremento de la concentración de mercurio en sangre en un intervalo de tiempo de 48

horas y un descenso exponencial de la concentración de mercurio en sangre y orina, aunque no observan el incremento de la concentración de mercurio en orina observado por los dos anteriores autores (452).

Vimy y Lorscheider en 1985 estiman una ingesta diaria de mercurio procedente de los empastes de amalgama en 48 µg, que se acercan al límite establecido por OSHA para inhalación de mercurio en ambiente de trabajo (541). Sin embargo, la metodología utilizada por estos autores ha sido severamente cuestionada por otros investigadores (301) (375). Olsson y Bergman en 1987 (375) determinan que la liberación de mercurio es 16 veces menor de la que manifiestan Vimy y Lorscheider. Berglund et al, en 1988 (42) demuestran experimentalmente que esta gran discrepancia se provoca como resultado de los errores en los métodos utilizados por Vimy y Lorscheider en 1985. Berglund, en 1990, calcula la dosis media diaria estimada de vapor de mercurio procedente de empastes de amalgama en 1,7 µg, o sea, aproximadamente el 1% de la cantidad media diaria para una persona expuesta 40 horas al valor umbral límite marcado por la OMS (50 µg/m³ de aire) (43). Weiner y Nylander, en 1995, a partir de 7 estudios realizados en Suecia, estimaron una ingesta diaria de 4 a 19µg (557). La conclusión de los numerosos estudios realizados es que la ingesta diaria media es menor de 10 µg (193) (234), e incluso menor de 5 µg, bastante alejada del límite máximo aceptado (68). Aunque la ingesta diaria media de mercurio procedente de las amalgamas es baja, existe una gran variabilidad interpersonal, lo que hace que ciertas personas lleguen a tener unos niveles altos de mercurio en orina, que en algunos casos llega incluso a valores entre 25 y 54 µg/g creatinina (14,35 y 30,8 nmol/mol creatinina) (29).

En 1987, un comité de expertos sueco indicó que la amalgama de mercurio, desde el punto de vista toxicológico, era un material no adecuado para la practica odontológica (556). La OMS, en 1991, indica que: “Es difícil hacer estimaciones cuantitativas con exactitud de la liberación del mercurio a partir de la amalgama y de la correspondiente incorporación del mismo al cuerpo humano, por lo que ciertos estudios pueden sobredimensionar o subestimar la ingesta de mercurio procedente de las amalgamas”(381). Tanto la ingesta prevista de mercurio a partir de la amalgama como la acumulación observada de mercurio demuestran importantes variaciones individuales

(381). Así pues, resulta difícil cuantificar con exactitud la liberación y la ingestión de mercurio por el cuerpo humano a partir de los empastes con amalgama (381).

En referencia con la intensa polémica sobre los peligros para la salud que puede plantear el mercurio de la amalgama: en Suecia el Gobierno recomienda la no utilización de amalgamas dentales en niños y adolescentes (130); Lorscheider et al, en 1995, indican la producción de profundos efectos tóxicos sobre la célula a los niveles de exposición provocados por las amalgamas dentales (299); la OMS, en 1991, afirma que los informes en los que se describen distintos tipos de síntomas y signos y los resultados de los escasos estudios epidemiológicos realizados no son concluyentes (381). El Servicio de Salud Pública de los EE.UU. concluye, en su informe de 1993, que “las pruebas científicas actuales no muestran que la exposición al mercurio procedente de las amalgamas dentales constituya un serio riesgo para la salud, a excepción de un extremadamente pequeño número de reacciones alérgicas” (531). Aunque no se puedan descartar ligeros efectos para la salud, en individuos sensibles, con un alta exposición al mercurio procedente de la amalgama y que, al igual que con otros materiales y compuestos químicos, no se pueda hablar de una completa seguridad para toda la población, la remoción de las amalgamas por motivos de seguridad no está justificada (129). Los planes de reducción de los usos industriales de mercurio de los gobiernos alemán y sueco obedecen a motivos medioambientales (130).

1.2.- FUENTES DE EXPOSICIÓN

En la población infantil, la ingestión de pilas y baterías así como la rotura de termómetros clínicos son dos fuentes muy frecuentes de exposición, aunque rara vez producen sintomatología tóxica (288). El uso doméstico de instrumentos que contienen mercurio metálico, como los termómetros, presentan poco peligro por su escasa

capacidad de absorción por vía oral o rectal, pero la ingestión de pilas alcalinas es una fuente de intoxicaciones, sobre todo en niños (497); al ser atacadas por el ácido gástrico se libera mercurio que se oxida (HgO). Como consecuencia de la rotura de un instrumento que contiene el metal, éste se esparce por el suelo o la mesa de trabajo, quedando expuesto al aire en una gran superficie, ya que la presencia de polvo que mantiene el mercurio en forma de finas partículas, favoreciendo su evaporación (270).

En personas no expuestas, la principal fuente de mercurio metálico es el vapor liberado de los empastes de amalgama, mientras que la fuente principal de mercurio orgánico es el pescado y marisco (264) (300) (497) (381). El mercurio inorgánico (Hg^{2+}) se introduce a través de alimentos, agua y aire (300). La forma más importante de ingreso de mercurio en el organismo es por la ingesta de pescado (7). El pez espada o emperador es el que mayores concentraciones de tóxico alcanza (259). Atendiendo a las concentraciones en la atmósfera y en el agua, pueden producirse contribuciones importantes a la ingesta diaria de mercurio total (381).

Ingesta

En la mayor parte de los productos alimenticios, el mercurio se encuentra en su forma inorgánica y por debajo de su límite de detección, 20 ng/g (381), excepto el pescado y sus productos que son la principal fuente de metilmercurio en la dieta (381).

Se estima que el ser humano tiene una ingesta diaria de aproximadamente 2,4 μg (383) a 5 μg de metilmercurio (68) y 6,7 μg de mercurio total (383). En la mayoría de los países la ingesta diaria de mercurio es inferior a 20 μg (497). En Inglaterra, donde la contribución de mercurio en pescado es de 2-5 μg de un total de 5-10 μg de todos los alimentos, el consumo es muy variable: 10-225 gramos de pescado/día, lo cual implica una ingestión semanal que puede ser elevada: 5-620 μg /semana (0,7-77 μg /día) (497).

Tabla III.3.- Ingesta diaria estimada y retención (μg /día) de mercurio total y compuestos de mercurio en la población general no ocupacionalmente expuesta a mercurio. Los valores entre paréntesis representan la cantidad estimada que se retiene en el cuerpo de los adultos. Tomado de Environmental Health Criteria 101: Methylmercury (OMS, 1990).

Fuente	Vapor de mercurio elemental	Compuestos de mercurio inorgánico	Metilmercurio
Aire	0,030 (0,024)	0,002 (0,001)	0,008 (0,0064)
Comida			
Pescado	0	0,6 (0,042)	2,4 (2,3)
Resto	0	3,6 (0,25)	0
Agua de bebida	0	0,050 (0,0035)	0
Amalgamas dentales	3,8-21 (3-17)	0	0
<i>Total</i>	<i>3,9-21 (3,1-17)</i>	<i>4,3 (0,3)</i>	<i>2,4 (2,31)</i>

En el pasado los compuestos de metilmercurio se utilizaban como fungicidas o aparecían como productos residuales de la industria química (581). Hoy en día, la metilación del mercurio en los sedimentos de los océanos es la principal fuente de exposición, acumulándose en las cadenas alimenticias de los peces que las habitan y, finalmente, contaminándose el hombre por su consumo (155).

Tanto la capacidad de algunos organismos marinos de realizar las transformaciones químicas sobre el mercurio, convirtiéndolo en un compuesto orgánico, sobre todo metiltiometilmercurio, como la facultad de aumentarlo, hacen que la ingestión de pescado sea una de las vías más frecuentes de exposición al Hg para la población general (497). El factor de bioconcentración, o sea, la relación entre la concentración de metilmercurio en el pescado y en el agua, se encuentra normalmente entre 10.000 y 1.000.000 (383). La cantidad de mercurio que un pez puede acumular está en función de su longevidad, tamaño y de su riqueza en grasa (497). El umbral de tolerancia del mercurio en los peces es superior al que se registra en la especie humana, de ahí el peligro que puede representar el consumo del pescado contaminado (497).

Puede afirmarse que “con pocas excepciones, casi todo el mercurio presente en pescado de agua dulce y salada se halla en forma de metilmercurio” (497).

Son muy numerosos los trabajos sobre niveles de mercurio y metilmercurio en peces, ya que son indicativos de la contaminación del medio en que se encuentran, aunque es necesario completar los estudios con determinaciones en agua, plancton y organismos acuáticos inferiores (497).

De los resultados globales puede deducirse que (497):

- El pescado de agua dulce no contaminada contiene concentraciones de mercurio entre 100 y 200 µg/kg de peso húmedo
- El pescado de agua dulce de zonas contaminadas alcanza niveles entre 500 y 700 µg/kg de peso húmedo, o aún más.
- El pescado oceánico contiene valores de aproximadamente 150 µg/kg
- Las especies carnívoras grandes (pez espada, tiburón, atún) contienen , por lo general, entre 200 y 1500 µg/kg. Concentraciones por encima de 1,2 mg/kg se encuentran con facilidad en la parte comestible del tiburón, pez espada y atún del mediterráneo (381). Se encuentran concentraciones de mercurio similares en lucio y róbalo procedentes de agua dulce contaminada (381).

La concentración de mercurio en el pescado, incluso en personas de bajo consumo (10-30g de pescado/día), puede afectar de forma acusada la ingesta de metilmercurio y, por lo tanto, el mercurio total (381).

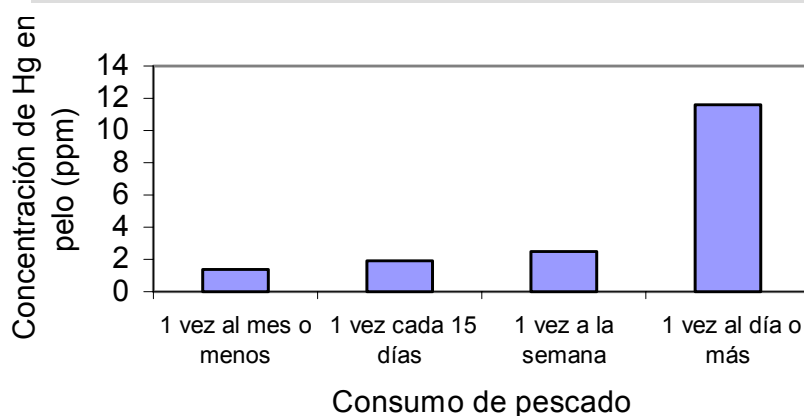
El límite de ingesta diaria generalmente aceptado es de 40 µg (30 µg como metilmercurio) (68). La Environmental Protection Agency (EPA) de los EE.UU. estima que una consumición de metilmercurio de 0,3 µg/hg/día, durante toda la vida, supondría una baja probabilidad de efectos tóxicos no cancerígenos, aunque no determina una concentración sin efectos adversos observados (NOAEL “no-observed-adverse-effect level”) (530).

En Suecia la contribución de mercurio procedente de productos marinos fue estimada en un rango entre 0 – 800 µg Hg/día (497), sin embargo, actualmente se estima en 0-0,9 µg Hg/Kg de peso/día (0-0,63 µg Hg/día para un individuo de 70 Kg) (497). En la legislación japonesa se añadió una cláusula según la cual la ingesta semanal no debe superar 170 µg de metilmercurio por individuo adulto de 50 Kg de peso. Recomendaba que las dietas de los niños y mujeres embarazadas se controlen de forma más estricta (497).

La concentración de mercurio en la sangre (78) (121), en el pelo (14) y en la leche materna, principalmente inmediatamente después del parto (121), se correlaciona con el

consumo de pescado. Se observan diferentes concentraciones medias según la zona y país debido a la distinta dieta y medioambiente (14).

Figura III.3.- Correlación de la concentración de mercurio en pelo con el consumo de pescado. Tomado de (14)(Airey, 1983).



Se observa un incremento estadísticamente significativo en la concentración de mercurio en sangre con la frecuencia en el consumo de pescado (veces a la semana) (121), un incremento del 8% (16), pero no se observa correlación estadísticamente significativa entre el consumo de pescado y la concentración de mercurio en orina (16) (121) y en plasma (16).

Intoxicaciones

Las actividades agrícolas (compuestos alquílicos, arílicos, alcoxialquílicos y formas inorgánicas del mercurio han sido utilizadas como fungicidas y plaguicidas agrícolas (476) e industriales del hombre moderno han aumentado las tasas normales de este metal en la biosfera originando, en algunos casos, graves intoxicaciones en núcleos importantes de población (476). El ejemplo más dramático lo tenemos en el célebre accidente de Minamata (Japón). En esta población pesquera se registraron 111 envenenamientos durante el período 1953-1960. Posteriormente, en la bahía de Niigata se produjeron 120 casos de envenenamiento de metilmercurio con 5 muertos. Los responsables fueron fábricas que sintetizaban acetaldehído y cloruro de vinilo utilizando cloruros y sulfuros mercúricos como catalizadores, que vertieron al mar los residuos (163). La fábrica, que contenía un catalizador con un 1% de mercurio, funcionaba desde 1952 y se estimó que durante unos 10 años la cantidad de mercurio acumulada en los sedimentos del fondo marino pudo ser de 150 toneladas (497).

En Suecia se encontraron cantidades muy altas de mercurio en aves, pescados y productos agrícolas, resultado de una contaminación industrial y del uso de fungicidas y plaguicidas mercuriales (476). En 1970 se investigó el contenido en mercurio de los peces en el lago Saint Clair (Canadá), encontrándose altas concentraciones de este metal.

En 1956, el fungicida etilmercurio-*p*-toluen sulfamida provocó en Iraq un intoxicación al ingerir la población harina de trigo tratado con dicho fungicida (497). Con la misma etiología se produjeron en Paquistán 34 muertos intoxicados por trigo tratado con etilmercurio y acetato de mercurio. La peor de todas se produjo en Iraq (1971-1972) donde se detectaron 6.148 intoxicados y 452 muertos como consecuencia de la ingestión de pan al haber sido tratado el trigo con metilmercurio como fungicida (68) (497).

Exposición laboral

En el terreno profesional, la principal vía de entrada de mercurio metálico en el organismo es la pulmonar como consecuencia de la inhalación de vapores (270). La

concentración atmosférica está en función de la temperatura ambiente, de la superficie del mercurio expuesta y del grado de ventilación del medio (270); 1 m³ de aire saturado por vapores de mercurio contiene, aproximadamente, 15 mg de mercurio a 20°C y 68 mg a 40°C (270).

El riesgo ocupacional se presenta en trabajadores de diferentes actividades en que se emplea mercurio, como mineros, joyeros, dentistas y personal de laboratorio (497). Este último, junto al que interviene en la preparación o uso de fungicidas organomercuriales, son los que presentan mayor riesgo de intoxicación por compuestos orgánicos (497).

Se han descritos casos de toxicidad en trabajadores que reparan esfingomanómetros, cuando las condiciones de trabajo no son las adecuadas, habiéndose descrito concentraciones ambientales en el medio laboral 8 veces superiores a los límites recomendados (567), exposición que se puede evitar con la utilización de esfingomanómetros digitales o aneroides.

La exposición crónica a mercurio elemental suele darse en trabajadores de la industria, fundamentalmente en aquellas que utilizan procesos de catálisis, en el procesado de plantas cloroaústicas, equipos eléctricos, pinturas, fabricación de fungicidas y en minas con extracciones de metales por medio del mercurio (8) (50) (247) (259) (576). En 1993 tres trabajadores en Iakati (Japón) murieron como consecuencia de la inhalación de las altas concentraciones de mercurio producidas al cortar tuberías a temperaturas superiores a 1000°C en una refinería de zinc (24).

La industria que se considera, actualmente, como principal fuente de contaminación es la industria cloroaústica (electrodos de mercurio), seguida de la industria papelera, en la que se utilizan compuestos mercuriales como fungicidas de la pasta de papel (476).

La exposición a altos niveles de mercurio puede encontrarse en minas de mercurio y en ciertas industrias, como, por ejemplo, para la producción de cloro, tubos fluorescentes o termómetros (447). Bajos niveles de exposición son comunes en la práctica odontológica y se ha observado también en la población en general como resultado de la liberación de mercurio procedente de las amalgamas dentales (447).

Una encuesta del Instituto Nacional de Salud e Higiene Ocupacional de EE.UU. (NIOSH), en 1983, sobre 84 trabajadores en una fábrica de termómetros indicaba que 5 trabajadores tenían unos niveles de mercurio por encima de 150 $\mu\text{g/g}$ creatinina y tres trabajadores concentraciones urinarias por encima de los 300 $\mu\text{g/g}$ creatinina. Los niveles de mercurio en aire variaban entre 26 y 271 $\mu\text{g/m}^3$ (128). Otros estudios en fabricas de termómetros e instrumentos con mercurio de EE.UU. obtuvieron resultados similares (277) (411) (548). Barregard et al, en 1999, en un trabajador de fábrica de termómetros expuesto a mercurio durante un largo período, encuentra una concentración de mercurio en corteza renal de 25 $\mu\text{g/g}$, 50 a 100 veces más elevado que los que se pueden encontrar en la población no expuesta (32).

La exposición profesional al mercurio inorgánico se ha estudiado en plantas industriales de cloro, minas de mercurio, fábricas de termómetros, refinerías de oro y plata y consultorios odontológicos (381). Se han comunicado elevados niveles de mercurio respecto de todas estas situaciones de exposición profesional, si bien los niveles varían en virtud de las condiciones del entorno laboral (381).

En refinerías de oro y plata en EE.UU la concentración urinaria media era de 108 $\mu\text{g/L}$ para cuatro trabajadores regularmente expuestos (196).

Se han descrito pocas intoxicaciones ocupacionales debidas al fenilmercurio (497). En exposiciones industriales prolongadas no se ha mostrado evidencia de efectos tóxicos (497). Este mismo grupo indica que tampoco se ha descrito gran número de intoxicaciones profesionales por metoximetilmercurio (sustitutivo del metilmercurio en fungicidas) (497)

Recientemente se han publicado casos de intoxicación aguda mercurial tras su ingesta accidental o con fines suicidas (324).

Tabla III.4.- Resultados de la monitorización de trabajadores en distintos puestos de trabajo. Tomado de Sallsten et al, 1992, en Appl Occup Environ Hyg (7).

Puesto de trabajo	Mercurio en aire ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)				Mercurio en sangre (nmol/l)				Mercurio en orina (nmol/mmol creatinina)			
	N	Mediana	Media	Rango	N	Mediana	Media	Rango	N	Mediana	Media	Rango
Planta Clorocáustica (horario normal)	14	56	65	24-123	8	55	73	45-150	8	33	32	16-43
Planta Clorocáustica (después del cierre)	16	97	131	38-437	7*	155	148	85-240	5*	5,4	6,1	4,7-8,7
Fábrica de termómetros	24	38	39	15-58	7	56	57	30-101	6	19	21	1,1-51
Clínicas odontológicas	36	2,8	4,5	1,7-24	12	16	17	6-29	12	2,1	2,6	1,1-5,4

(* Después de tres días de exposición)

Sallsten et al, en 1992, determinan los niveles de mercurio en sangre y orina de trabajadores de diferentes ocupaciones expuestas al mercurio determinados por en 6 clínicas odontológicas, una fábrica de termómetros y una planta clorocáustica. Los datos muestran unas concentraciones sanguíneas inferiores en los trabajadores de clínicas odontológicas frente al resto y unas concentraciones sanguíneas elevadas después de tres días de exposición en trabajadores de mantenimiento fuera del horario de trabajo normal, aunque la concentración urinaria no difería de la de trabajadores no expuestos (ver Tabla III.4) (445).

Clínicas Odontológicas

Uno de los temas más controvertidos son las amalgamas de mercurio utilizadas por los dentistas (198) (424). El uso de amalgamas odontológicas pueden causar la exposición del dentista, los ayudantes y también de los pacientes (381).

Antiguamente, la amalgama era normalmente preparada con mortero y pistilo (381). La mezcla de amalgama se depositaba en un filtro de paño y exprimida para eliminar el exceso de mercurio (381). En este método manual se vaporiza mercurio y hay un riesgo

de derramamiento. El método moderno utiliza una cápsula sellada para la mezcla (490). El menor uso de amalgamas, y el empleo de medidas de seguridad como (amalgamas encapsuladas) portaamalgamas y agitadores automáticos, ha restado importancia a este tóxico (259), que en otras circunstancias tiene un riesgo evidente para estos profesionales (259). El uso de amalgamas encapsuladas reduce el nivel de mercurio en el ambiente y disminuye la posibilidad de derramamientos de mercurio que favorecen un nivel de mercurio alto en el ambiente (78).

Varios estudios realizados entre 1960 y 1980 han indicado niveles medios de mercurio en el aire de clínicas dentales de 20 y 30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ y en algunas se alcanzaron 170 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (64) (183) (236) (462). En 1981, Nixon et al, analizando 200 clínicas dentales observan 11 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, con un intervalo de 0 a 82 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (355). Unos años después, Nilsson y Nilsson en 1986 obtienen una concentración de mercurio en el aire de clínicas dentales privadas de tan sólo 4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (350).

La concentración de mercurio en orina en dentistas y personal auxiliar encontrada en distintos estudios varía debido a la metodología del muestreo, a la metodología analítica y a variaciones en la exposición ocupacional de los participantes (381).

Joselow et al, en 1968 encontraron una concentración urinaria media de 40 $\mu\text{g}/\text{L}$ en 40 dentistas y algunos excedían de 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ (236), concentraciones similares a las encontradas por Gronka et al, en 1970 (183) y Buchwald en 1972 (64).

Cuando Battistone et al, en 1976 analizaron el nivel de mercurio en 1389 dentistas americanos, el valor medio fue de 9,8 $\mu\text{g}/\text{L}$ (18 dentistas tenían una concentración superior a 30 $\mu\text{g}/\text{L}$) (37). Brady et al, en 1980 obtienen una concentración media de 8,5 $\mu\text{g}/\text{L}$ (el 7,4% de los participantes tienen una concentración superior a 15 $\mu\text{g}/\text{L}$) (55).

Naleway et al, en un estudio realizado entre 1975 y 1983 sobre 4272 dentistas de todo EE.UU, encontraron una concentración urinaria media de 14,2 $\mu\text{g}/\text{L}$ ($\text{SD} \sim 25,4 \mu\text{g}/\text{L}$) en una distribución no Gaussiana, con un rango de 0 a 556 $\mu\text{g}/\text{L}$ (343). En el 4,9% de las muestras la concentración estuvo por encima de 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ y por encima de 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ en el 1,3% (343).

En un estudio en Bélgica, Huberlant et al, en 1983 obtienen una concentración urinaria media de 11,5 µg/g creatinina) (216).

En un estudio similar noruego, Jokstad en 1987 obtiene que el 2% de un grupo de 672 dentistas tenían los niveles de mercurio urinario más elevados de 20 µg/L, siendo el valor obtenido más alto de 50 µg/L (235). Nilsson y Nilsson, en 1986, encuentran una concentración urinaria media entre el personal de clínicas dentales privadas de Noruega de 6 µg/L (rango de 1-21) para dentistas y 7 µg/L para ayudantes (rango 1-70) (351).

En 1991, Akesson et al, encuentran unos niveles bajos de mercurio en sangre (3,4 µg/L), plasma y orina (3,2 µg/g CR), en personal de clínicas odontológicas, lo que asocian con una mejora en las condiciones de higiene laboral (16). Aún así, el personal de las clínicas dentistas tiene una concentración urinaria significativamente más elevada que el del grupo control (2,0 µg/g CR), sin encontrar diferencias significativas entre la concentración en sangre total (3,4 µg/L en grupo control) (16).

Los datos de los diferentes estudios realizados indican una progresiva reducción de la concentración de mercurio en orina del personal de las clínicas odontológicas (130).

Mientras que la concentración de mercurio inorgánico y total en sangre se encuentra significativamente elevada en dentistas, la concentración de mercurio orgánico en los dos grupos, dentistas y no dentistas, no es estadísticamente diferente ($p \sim 0,05$) (78).

En cuanto a la diferencia de exposición entre los dentistas y los auxiliares, Kelman en 1978 encuentra un aumento en la concentración de mercurio urinario estadísticamente significativo entre ayudantes de odontología (38 µg/L) y dentistas (22 µg/L) (242). Por otro lado, Nixon et al, en 1981 sólo encuentran pequeñas diferencias entre dentistas y sus ayudantes (355).

Los dentistas y ayudantes pueden estar momentáneamente expuestos a altas concentraciones de mercurio durante la extracción (61) (130), inserción y pulido de los empastes de amalgama (130), especialmente si no se toman las adecuadas medidas de protección (64) (78) (425) (427), como el aporte de agua y la succión (61) (130). Richards y

Warren en 1985 encuentran concentraciones de cerca de $1000 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en la zona donde respiran los dentistas que no utilizan enfriadores o adecuada aspiración durante los procesos de trabajo (427). La correspondiente concentración cuando se utilizan las adecuadas medidas de protección es 10 veces inferior ($110 \mu\text{g}/\text{m}^3$) (427).

Aunque la magnitud de la exposición ocupacional se puede determinar analizando los niveles de mercurio en determinados tejidos, existen pocos trabajos al respecto (381). Kosta et al, en 1975 obtienen unos niveles de mercurio en cerebro de mineros de la minería del mercurio fallecidos varios años después de haber terminado la exposición de $700 \mu\text{g}/\text{Kg}$ de cerebro húmedo ($\text{SD} \pm 640 \mu\text{g}/\text{Kg}$; $N=6$) y la concentración en pituitaria de $27.100 \mu\text{g}/\text{Kg}$ ($\text{SD} \pm 14900 \mu\text{g}/\text{Kg}$; $N=7$). En el mismo estudio, la concentración media en cerebros no expuestos al mercurio era de $4,2 \mu\text{g}/\text{Kg}$ ($\text{SD} \pm 26 \mu\text{g}/\text{Kg}$; $N=5$); en pituitaria $40 \mu\text{g}/\text{Kg}$ ($\text{SD} \pm 26 \mu\text{g}/\text{Kg}$; $N=6$) y en riñón $140 \mu\text{g}/\text{Kg}$ ($\text{SD} \pm 160 \mu\text{g}/\text{Kg}$; $N=7$) (253). Entre un pequeño grupo de dentistas fallecidos, sin síntomas conocidos de intoxicación por mercurio, los niveles de éste variaron desde concentraciones muy bajas hasta varios cientos de $\mu\text{g}/\text{Kg}$ en la corteza del lóbulo occipital y desde unos $100 \mu\text{g}/\text{Kg}$ hasta unos cuantos mg/Kg en la hipófisis (381).

2.- CICLO MEDIOAMBIENTAL

Existe un ciclo global perfectamente conocido para el mercurio, por el cual el vapor de mercurio elemental emitido es convertido a formas solubles como, por ejemplo, compuestos de Hg^{2+} , y depositado por la lluvia en el suelo y agua (383). El vapor de mercurio representa la principal forma de transporte (51).

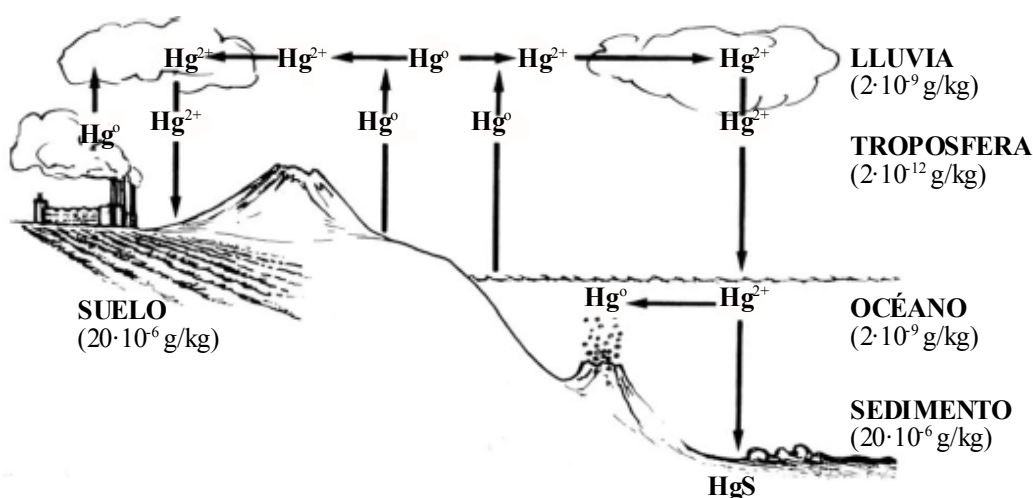


Figura III.4.- Ciclo del mercurio. El mercurio es emitido a la atmósfera por fuentes naturales y antropogénicas en la forma de vapor de mercurio elemental (Hg^0). Es convertido a una forma soluble que se asume es Hg^{2+} . Éste último retorna a la superficie de la tierra por medio de la lluvia y puede ser reducido a Hg^0 y emitido de nuevo a la atmósfera. El sedimento marino se cree que es el destino final donde el mercurio se encuentra en forma de sulfuro de mercurio (II) (HgS). Tomada de IPCS. *Environmental Health Criteria 101 OMS 1990* (383).

El vapor de mercurio tiene un tiempo de residencia en la atmósfera de 0,4 a 3 años, mientras que los compuestos solubles de mercurio tienen unos tiempos de residencia de unas pocas semanas (383). De esta manera, el transporte de mercurio en los suelos y agua es muy limitado y es probable que la deposición tenga lugar dentro de cortas distancias (383).

El cambio desde formas inorgánicas del mercurio a metilmercurio es el primer paso del proceso de bioacumulación acuática de mercurio (383). La metilación tiene lugar principalmente en sedimentos tanto de aguas dulces como de mar (383), por un mecanismo de metilación no enzimático en el que se encuentran envueltas metilcobalaminas, análogas

a la vitamina B₁₂, que se producen en la síntesis bacteriana (383).

Una vez que se libera el metilmercurio entra a formar parte de la cadena alimentaria y por un proceso de bioconcentración se pueden encontrar altos niveles del mismo en peces predadores de agua dulce: trucha, lucio, róbalo; y de mar: atún, pez espada y tiburón (383). El factor de bioconcentración, o sea, la relación entre la concentración de metilmercurio en el pescado y en el agua, se encuentra normalmente entre 10.000 y 1000.000 (383). La cantidad de mercurio que un pez puede acumular está en función de su longevidad, tamaño y de su riqueza en grasa (497).

La especiación del mercurio en suelos contaminados depende de la naturaleza de la fuente contaminante, de sus propiedades fisicoquímicas y de las propiedades químicas del suelo receptor, lo que también influye en su bioaccesibilidad. La humedad del suelo, su contenido orgánico, la microflora predominante y el contenido de sulfuro, son importantes para evaluar las transiciones ambientales del mercurio y, por lo tanto, de la bioaccesibilidad (109). Incluso después de décadas, el mercurio metálico que se depositó a partir de manómetros o como amalgamas utilizadas para recubrir metales preciosos a través de la historia, puede permanecer como glóbulos de mercurio elemental, identificables visualmente o por cromatografía de espacio en cabeza (109). Más del 98% del mercurio en suelos está presente como mercurio (II) sin radicales alquilo (109).

A pH neutro, los minerales de mercurio son muy poco solubles en agua. Sin embargo, si los compuestos de mercurio son reducidos a mercurio elemental por medios abióticos o no (por ejemplo: fotólisis o reacción con aminas, aldehídos y cetonas) el mercurio puede volatilizarse o ser más soluble por formación de complejos (109). La mayor parte de los compuestos de Hg(I) se oxidan a Hg(II) al ser expuestos a la luz y el aire excepto bajo condiciones ácidas, oscuridad, anaerobiosis o reductores (65). Incluso los compuestos de Hg(II) son fotosensibles, produciendo lentamente mercurio elemental y oxígeno cuando el óxido de mercurio (II) se expone a la luz (109).

Cuando no se especifica otra cosa (por ejemplo: los fungicidas acetato de fenilmercurio y metil-etil-mercurio), cuando se habla de mercurio orgánico en el medioambiente, se refiere a metilmercurio y dimetilmercurio (109). El porcentaje respecto al mercurio total de

monometilmercurio es, típicamente, de 0,01-2% y es más de 1000 veces superior a la concentración de dimetilmercurio, por lo que el último es, generalmente, ignorado (109).

La concentraciones normales de metilmercurio en suelos no contaminados varía en el intervalo de 0,01 ng/g a 2 ng/g, mientras que en lugares contaminados los niveles de mercurio orgánico se han llegado a observar 6300 ng/g (no necesariamente metilmercurio) (109).

La fracción de metil mercurio aumenta con el contenido orgánico y la humedad, posiblemente debido a un aumento de la actividad microbiana. A pesar de su bajo porcentaje en suelos y sedimentos, los compuestos orgánicos son, al menos, un orden de magnitud más móviles que los compuestos de mercurio inorgánicos (48) y, por lo tanto, más tóxicos y más rápidamente bioacumulados (553). Consecuentemente, el metilmercurio es el compuesto de mercurio de mayor interés desde un punto de vista toxicológico (109).

El metilmercurio es muy sensible a la luz ultravioleta, por lo que se descompone rápidamente cuando permanece expuesto a la luz (12).

3.- METABOLISMO

El metabolismo del mercurio se representa gráficamente en la figura III.5.

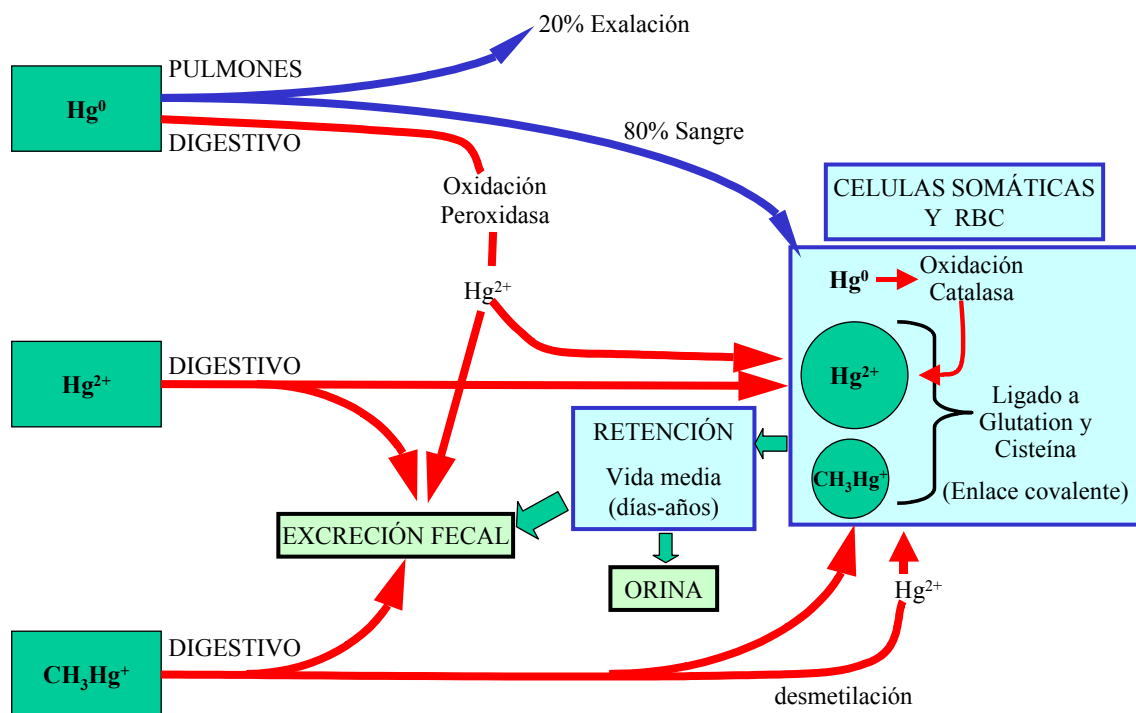


Figura III.5.- Principales vía metabólicas de las tres principales especies del mercurio. Tomado de Lorscheider 1995, Faseb Journal.

3.1.- ABSORCIÓN

Se estima que el 80% de los vapores de mercurio inhalados se absorben por el alveolo (68) (381), por lo que, considerando su elevada volatilidad resulta fácil esta forma de intoxicación (259).

Al revés que sus derivados, la absorción digestiva del mercurio metálico es insignificante (68) (270), se limita a un 0,01% de la dosis administrada (497). Pueden absorberse pequeñas cantidades si el metal está finamente disperso en el bolo alimenticio (259).

La vía subcutánea es una vía de penetración accidental del mercurio metálico y las enfermeras son las principales víctimas (herida en la piel por rotura de un termómetro y penetración del mercurio por la herida) (270).

Aunque es baja, es posible la penetración del mercurio metálico y de alguno de sus compuestos inorgánicos por vía cutánea (28) (270). Se han descrito intoxicaciones humanas a consecuencia de la aplicación cutánea de cremas o jabones que contenían mercurio inorgánico (267).

Los derivados inorgánicos del mercurio han sido responsables de intoxicaciones agudas por la ingestión accidental o voluntaria de sales de mercurio. Los compuestos inorgánicos solubles presentan rangos de absorción similares entre sí, considerados cuantitativamente entre 2 y 15% para humanos (497).

En el medio industrial los riesgos de exposición excesiva por inhalación de compuestos inorgánicos de mercurio es muy poco probable, salvo si están en forma de aerosol (270). La absorción respiratoria de los compuestos inorgánicos del mercurio es escasa, aunque los polvos finamente dispersos en la atmósfera pueden dar lugar a intoxicaciones (259). Por vía dérmica su absorción es pobre (125). Las sales caústicas, una vez que lesionan la zona de contacto con la piel o mucosa, tienen una absorción muy superior a la considerada para los

tejidos íntegros (125).

Los derivados orgánicos del mercurio pueden absorberse por vía oral, pulmonar y cutánea (163) (270), aunque sólo se absorben pequeñas cantidades de mercurio orgánico por la piel (215). En la industria, la absorción pulmonar es la más frecuente, especialmente para los derivados alquilados que son más volátiles que los arilados y los alcoxilalquilados (270). Son más escasos los trabajos sobre absorción por vía pulmonar de los compuestos orgánicos que los que existen sobre la absorción pulmonar del vapor de mercurio, sin embargo, se ha demostrado en ratones que la retención del etil y metilmercurio por vía inhalatoria es elevada; en humanos se estima que es de un 80% (497). Los alquilmercúricos se absorben con facilidad a través de la piel y el aparato respiratorio (259). La absorción digestiva de los compuestos fenilmercúricos es del 50% por término medio, frente a los alquilmercúricos, que es del 80% (259). La absorción de los compuestos de metilmercurio se estima entre un 90% (68) y un 95% de la dosis administrada por vía oral (382), independientemente de si el radical metilmercurio está unido a proteínas o es administrado como sal en solución acuosa (497).

3.2.- TRANSPORTE Y BIOTRANSFORMACIÓN

Una vez absorbido, el transporte se realiza por los distintos constituyentes de la sangre (497). En el caso del vapor de mercurio la relación glóbulos rojos plasma es de 1,5 a 2, estimándose en 2 en los primeros días de la exposición (497). Para las sales inorgánicas de mercurio esta relación es mucho menor, aproximadamente 0,4 (497). El cociente hematíes/plasma para el metilmercurio en el ser humano es, aproximadamente, 10 (497) o incluso 20 (383). Así, en la sangre, mientras el mercurio derivado de las sales de mercurio inorgánico se distribuye igualmente entre las proteínas plasmáticas y los glóbulos rojos, el mercurio derivado de los organomercuriales se fija especialmente en los glóbulos rojos (90) (163) (270) (532), principalmente en los grupos SH de la hemoglobina (564). Tanto en los humanos como en los animales de experimentación (conejo, ratón, rata) el metilmercurio se une al glutatión en el glóbulo rojo (497).

Después de su penetración en el organismo, el mercurio metálico persiste de manera transitoria en forma metálica y es transportado a los diferentes órganos, donde es rápidamente, en cuestión de pocos minutos (129), oxidado a ión mercurio Hg^{2+} , que puede unirse con las proteínas sanguíneas e hísticas (270). El Hg^{2+} es el producto tóxico responsable de los efectos adversos del Hg^0 inhalado (300). La oxidación con catalasa, enzima habitual en todas las células de mamíferos, es la reacción más importante sobre el mercurio que le confiere toxicidad (305). Este proceso puede tener lugar en cualquiera de las barreras celulares del cuerpo y la sangre. Los compuestos orgánicos liberan lentamente mercurio metálico (259). El metilmercurio es transformado en el organismo a mercurio Hg^{2+} , por lo que la proporción de metilmercurio con respecto al mercurio total en un tejido, depende de la duración de la exposición y el tiempo transcurrido desde entonces (383). Después de la administración de grandes dosis de metilmercurio durante dos meses, el 73% del mercurio urinario (383) y el 80% del mercurio en leche (381), son inorgánicos. En las células, una parte del ión mercurio (II) puede sufrir una reducción a mercurio metálico (270). La reducción es catalizada por un sistema presente en el citoplasma celular (123). La no correlación entre el aumento de mercurio inorgánico en dentistas y la concentración de mercurio orgánico sugiere que la biotransformación de mercurio inorgánico a mercurio orgánico no ocurre “in vivo” (78).

Tanto el Hg^{2+} como el Hg^+ intracelulares, terminan uniéndose covalentemente a grupos glutathione (GSH), siendo los grupos sulfhidrilo de las proteínas son los siguientes en abundancia y afección por el Hg^{2+} , siendo los imino nitrógenos de la histidina y las nucleobases bastante menos reactivos (300), como lo demuestra la alteración de la movilidad electroforética de aminoácidos (cisteína, lisina y arginina) y aumento de la movilidad anódica de la albúmina y hemoglobina (497).

El acetaminofen (paracetamol) provoca un agotamiento del glutathione hepático. El efecto tóxico no se produce hasta que no se agota el glutathione hepático que, por lo tanto, tiene un efecto protector. Esta disminución del glutathione se considera un efecto adverso porque disminuye la capacidad normal de respuesta del hígado frente a otros tóxicos (112).

Varios autores observan que el selenio reduce la toxicidad del mercurio cuando se

administran simultáneamente, aunque retrasa la excreción de ambos elementos (79) (147) (161) (179) (270) (284) (380) (407) (497) (505) (513). Esto sugiere que la forma estable de mercurio inorgánico podría estar formada por la interacción del mercurio y el selenio (505). Determinando diferencialmente el mercurio ionizable del resto (orgánico e inorgánico S-Hg y Se-Hg) en tejidos de ratas a las que se les administra mercurio inorgánico (HgCl_2), se observa que en un primer momento casi todo el mercurio se encuentra en forma ionizable, mientras que al cabo de un tiempo el mercurio no ionizable aumenta, particularmente en hígado (505). Además, la aparición de esta forma de mercurio en los tejidos es mucho más lenta en aquellas ratas que tienen una dieta baja en S y Se que en aquellos en los que se les ha adicionado Se y S a la dieta (505).

A pesar del gran exceso de Glutathione (GSH), muchas proteínas compiten por la unión a metales de transición, como el Zn, Ni y Cu. La base química exacta de la gran afinidad de dichas metaloproteínas no está perfectamente conocida; muchos de los, actualmente, bien definidos miembros de este grupo, que incluyen importantes proteínas reguladoras, contienen cisteínas e histidinas como ligandos a sus respectivos cofactores metálicos (365). De esta manera, estas metaloproteínas pueden intercambiar metales, incluyendo mercurio, unidos a GSH (300). Mediante estudios en rata, se ha demostrado que no sólo se une a la metalotioneína (MT) (230) (574), sino que, además, estimula su síntesis (83) (259) (215), siendo la MT un agente protector de la toxicidad del mercurio inorgánico (91) (215) (248). Puesto que el zinc estimula la síntesis de MT su administración puede ejercer un efecto protector de la toxicidad del mercurio (24).

Una vez unido al GSH, el mercurio puede abandonar la célula y circular en el suero o linfa para ser depositado en otros tejidos. GS-Hg-GS es eliminado definitivamente o bien por vía renal, o depositado en el intestino por medio de la bilis y excretado por heces (300).

3.3.- DISTRIBUCIÓN

La distribución de los compuestos de mercurio también es diferente según la forma química

de que se trate (497). Es conocido que el vapor de mercurio presenta afinidad por el cerebro (497). El cerebro acumula diez veces más mercurio con la exposición a vapores de mercurio que con la inyección intravenosa de una cantidad similar de una sal de mercurio (270).

El vapor de mercurio se oxida rápidamente (129) (497) a Hg^{2+} en los eritrocitos o después de la difusión en los tejidos, por la acción de la catalasa, aunque permanece en la sangre como Hg^0 en la sangre durante un tiempo corto pero suficiente para atravesar la barrera hematoencefálica (497). El mercurio divalente se deposita en riñón (129), más específicamente en la parte distal del tubo contorneado proximal y el asa de Henle (259) (270) (497). Concretamente, se halla en las fracciones lisosómicas mitocondriales (lisosomas) (259) (536) y las membranas epiteliales (550), tanto en hígado como en riñón, unido a la metalotioneína, aunque previamente se había estimado que la concentración en los lisosomas renales ocurre en intoxicación crónica y no después de una exposición corta (497).

La distribución del metilmercurio es más uniforme (497). La mayor parte va al cerebro, hígado y riñón; se ha detectado también en el epitelio del tiroides, glándulas adrenales, espermatozoides, epitelio pancreático y epidermis y cristalino donde puede encontrarse mercurio después de una simple administración de metilmercurio (497). Los compuestos alquilmercúricos se distribuyen fundamentalmente en los tejidos ricos en grasas, y por tanto tienen un gran neurotropismo (163) (259). La administración de compuestos orgánicos alquilados comporta la acumulación de una cantidad importante de mercurio en el sistema nervioso (270). Se alcanzan niveles máximos de metilmercurio en cerebro después de 5-6 días de la administración (383). El metilmercurio se fija también en hígado y riñón (304) y, así, se pueden detectar alteraciones renales (aumento de las mitocondrias del tubo contorneado proximal) en el animal que recibe metilmercurio (251).

El metilmercurio depositado en el SNC se cambia a una velocidad menor que en otros órganos (307).

Mientras que el Hg^0 es lipófilo y atraviesa libremente la membrana celular, el mercurio iónico y el metilmercurio procedentes de la dieta y otras fuentes, por ser moléculas cargadas eléctricamente, deben formar complejos compuestos de bajo peso molecular que

contengan grupos sulfhidrilo para anular la carga eléctrica y atravesar la membrana celular (300).

Aunque con dificultad (270), la relativa liposolubilidad del ion mercurio le permite atravesar la barrera hematoencefálica (25).

El mercurio metálico atraviesa la barrera hematoencefálica y la placenta (215). En trabajadoras de odontología en estado de gestación se han encontrado niveles de mercurio en sangre fetal (cordón umbilical), prácticamente dobles que en sangre materna, debido a su exposición a concentraciones superiores a las permitidas en ambiente laboral $50 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, lo que demuestra que el mercurio puede atravesar la barrera hematoencefálica y la barrera placentaria antes de que éste se oxide a Hg^{2+} en el proceso de metabolismo normal (497).

Los derivados alquilados del mercurio atraviesan la barrera placentaria con más facilidad que el mercurio inorgánico (270) y pueden ser excretados por la leche (270). En madres lactantes la vida media se encuentra significativamente disminuida (383). Parece que el mercurio inorgánico derivado de los compuestos fenilados se fija preferentemente en la placenta (270). Después de la administración de metilmercurio a ratas gestantes se encuentra una concentración más elevada en el cerebro del feto que en el de la madre (aproximadamente 2 a 3 veces superior) (270). La concentración en sangre fetal es también superior a la de la sangre materna (270) (383).

3.4.- ELIMINACIÓN

La orina y las heces son las rutas preferentes de eliminación del mercurio inorgánico en el hombre (381), si bien se exhala una pequeña cantidad de mercurio elemental, formado por reducción del Hg^{2+} en los tejidos (124) y en baja cantidad por la piel y saliva (270). En caso de transpiración abundante, la cantidad de mercurio eliminada por el sudor puede ser

importante (270). El mercurio inorgánico es poco absorbido en la mucosa intestinal (381), por lo que el aproximadamente 90% del mercurio inorgánico secretado a bilis pasa directamente a heces. La vía urinaria predomina si la exposición es elevada (381). El mercurio inorgánico se excreta en forma ionizada libre o fijada a las proteínas (270).

El mercurio elemental se excreta principalmente por orina y heces (215). En horas siguientes a una exposición a vapores de mercurio se detecta la presencia de éste en el aire exhalado (217). Después de la exposición a vapor de mercurio, una pequeña proporción de mercurio elemental puede presentarse en la orina (503). Después de una exposición intensa a vapores de mercurio (por ejemplo concentración atmosférica superior a $440 \mu\text{g}/\text{m}^3$) una fracción muy baja (menor de 0,5%) del mercurio excretado por vía urinaria se encuentra en forma metálica (579). Atraviesa la barrera placentaria, encontrándose en el líquido amniótico (508).

La principal vía de eliminación del metilmercurio administrado es por heces, el 90% (383). La conversión del metilmercurio a Hg^{2+} puede ser una de las claves de que la práctica totalidad del mercurio en heces sea Hg^{2+} (140) (383). El proceso de la eliminación fecal de mercurio empieza con la secreción biliar de metilmercurio y de Hg^{2+} , formando complejos, prácticamente en su totalidad, con el GSH (423) u otros péptidos con grupos SH (360) (372).

El metilmercurio se excreta parcialmente por vía biliar (215) (270), principalmente conjugado al glutatión (423), pero en su mayor parte es reabsorbido por el intestino (215), en lo que se denomina ciclo enterohepático (360), que la microflora intestinal convierte a mercurio inorgánico, lo que contribuye a una mayor excreción fecal (438). Esta actividad microbiológica en el intestino puede explicar la influencia de la dieta en la eliminación de metilmercurio en ratas (439). Hasta que punto este modelo enterohepático de conversión del mercurio se puede aplicar al ser humano es todavía desconocido (383). La excreción biliar del metilmercurio se estimula por la administración de fenobarbital, sin duda por la inducción de la conjugación hepática del metilmercurio (372).

Un sujeto normal excreta menos de $10 \mu\text{g}/\text{día}$ de mercurio por la orina y $10 \mu\text{g}/\text{día}$ por las heces (270).

La excreción urinaria del metilmercurio es baja (270), sólo el 1% del mercurio orgánico se excreta sin modificar por la orina (215).

3.5.- TOXICOCINÉTICA

La eliminación de mercurio tras una exposición a vapor de mercurio sigue un modelo cinético complejo que varía según el tejido y tiempo de exposición (381). La mejor estimación es que después de una breve exposición a vapor de mercurio tiene lugar una primera fase en la que la eliminación del mercurio sanguíneo, que en ese momento constituye el 90% del mercurio, tiene una vida media de aproximadamente 2 a 4 días; tras la cual se observa una segunda fase con una vida media de 15 a 30 días (381). El mercurio elemental tiene una hemivida en la sangre de unos 60 días (215).

Para una exposición intensa pero breve, Barregard et al, (34), en 1992, observando 9 personas expuestas durante tres días a altos niveles de mercurio en plantas cloroalásticas, obtienen un modelo bicompartimental, al menos, para explicar la cinética de mercurio en sangre con una vida media de la primera fase de 2,5 a 4 días (concordante con la obtenida por Hursh, Cherian y Clarkson (217) aunque en ese caso la concentración a la que estaban expuestos era 500 veces inferior). La estimación de la vida media de la segunda fase es de 14 a 21 días, concordante con la observada en 1998 por Sandborgh-Englund et al, (450). Los mismos autores, obtienen un valor máximo en la concentración de orina a los 20 días (diferente de los 7 días obtenidos por Hursh, Cherian y Clarkson (217)) La vida media promedio después del pico de máxima concentración (a los 20 días), obtenida según un modelo monocompartimental, fue de 40 días (rango de 28-87 días, n=9) (446), concordante con los datos obtenidos por Hursh, Cherian y Clarkson (64 días rango 47-83, n=5) (217) y Suzuki et al, (23-40 días) (506).

Durante el periodo estival de 14 trabajadores de la industria clorocáustica, se observa un descenso en la concentración de mercurio en sangre, plasma y eritrocitos que sigue una cinética bicompartimental, con una vida media para la fase rápida de 3 días y una vida media para la fase lenta de 28 días (446). En el mismo periodo, no se observó ninguna disminución significativa en las concentraciones de mercurio urinarias (446).

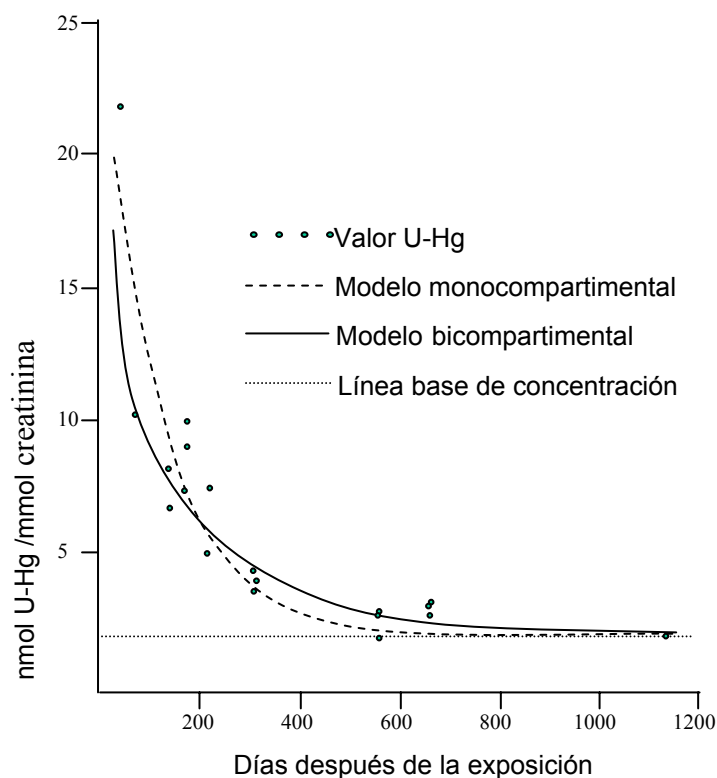


Figura III.6.- Cinética de la excreción urinaria después de una exposición de tres días a vapor de mercurio en una planta de cloroalcali. Tomada de [216] (Barregard et al, 1992).

Barregard et al, en 1996 (31), observan que en sujetos con una concentración en orina inicial por encima de 600 $\mu\text{g/g}$ CR, la disminución de la concentración urinaria de mercurio es mayor en los sujetos con mayor concentración y, por lo tanto, la cinética de eliminación por orina es bicompartimental (ver figura III.6), con una primera fase con una vida media de 2 a 16 días y una vida media de la fase lenta de más de un mes. De esta manera, la cinética de eliminación de Hg en orina es dosis dependiente (31). La explicación de la primera fase puede ser la de que se supera la capacidad de sitios de unión del mercurio en los riñones (31), a ciertos compuestos como metalotioneína, glutatión, cisteína y un complejo de mercurio-selenio-proteína (381).

La primera fase del modelo bicompartimental de eliminación de mercurio en la sangre es, probablemente, debida a la distribución del mercurio al riñón y otros tejidos (34). La segunda fase del modelo bicompartimental de eliminación de mercurio en la sangre, que es inferior a la vida media del mercurio en orina, parece reflejar la excreción fecal de mercurio (34). La excreción fecal de mercurio es inicialmente mayor que en orina pero parece ser baja después de 40 días (217). A los 40 días la concentración sanguínea es casi igual a la concentración anterior a la exposición mientras que la concentración urinaria permanece todavía elevada (34).

Esta cinética bicompartimental no fue observada en otros estudios como los realizados por Ellingsen et al, en 1993 (137) (monocompartimental $t_{1/2}$ =91 días), Skare y Engqvist en 1990 (481), Roels et al, en 1991 (434) (monocompartimental $t_{1/2}$ = 90 días), Bluhm et al, en 1992, Suzuki et al, en 1992 (506) (23-40 días); y Begerow et al, en 1994 (40) (95 días).

Roels et al, en 1991, observan una vida media de mercurio urinario de tres meses en trabajadores expuestos durante un largo periodo (434)

La velocidad de excreción del mercurio en el ser humano al serle administrado metilmercurio es directamente proporcional a la carga de mercurio en el organismo siguiendo, por lo tanto, un modelo monocompartimental con una vida media de 39-70 días (383). Ladrón de Guevara y Hu indican una semivida para los compuestos orgánicos de 70 días (215) (259). El que siga un modelo monocompartimental es debido a que el metilmercurio tiene tanta movilidad en el organismo que el proceso limitante es de la excreción (383). Cuando se alcanza el estado de equilibrio en el que la excreción y la ingesta se igualan, la vida media es de 70 días (163) (215) (259) (270) (383), pero hay grandes variaciones individuales (de 35 a 189 días) (270). El estado de equilibrio se alcanza al cabo de un año (270) (383).

Las vida plasmáticas medias elevadas del mercurio metálico y sus compuestos orgánicos indican que se acumula con facilidad (259). La semivida biológica, que dura sólo unos cuantos días o semanas para la mayor parte del mercurio absorbido, es sumamente larga, probablemente de años, para una parte del mercurio (381). Esas largas semividas han sido

observadas tanto en seres humanos como en animales (381). Varios estudios realizados sobre trabajadores expuestos al mercurio tras varios años de cesar la exposición muestran que la vida media en el cerebro es mayor que en otros órganos (381). La vida media de la fase lenta del modelo bicompartimental del mercurio sanguíneo tiene la tendencia a alargarse en personas expuestas durante un largo plazo o a altas dosis, lo que se explica por la existencia de más compartimentos en el modelo cinético que, con una vida media más larga, afectan la fase lenta del modelo bicompartimental (446).

Bernard y Purdue, en 1984, utilizan un modelo cinético de cuatro compartimentos en el que uno de ellos tiene una vida media biológica de 27 años (45). Los modelos cinéticos son poco seguros aunque pueden utilizarse como una estimación del “peor de los casos” para la retención del mercurio inorgánico en el cerebro (381). La formación de un complejo con el selenio puede ser responsable de la larga semivida que tiene una parte del mercurio (381)

Los tejidos tienen diferente vida media de retención que varía para el Hg^+ y para el Hg^{2+} desde días a años (381) (480). El mercurio (II) es retenido por los riñones y el encéfalo durante años (215).

En estudios con isótopos trazadores en nueve voluntarios (217) la vida media para la mayor parte del mercurio en el cerebro fue de $19 \pm 1,7$ días durante los primeros 35 a 45 días. Newton y Fry, en 1978, encontraron una vida media de 23 y 26 días en el cerebro de dos personas accidentalmente expuestas a óxido de mercurio radiactivo (349). Para una pequeña fracción del mercurio la vida media en el cerebro es muy larga (381). Después de uno o dos años de haber cesado la exposición a metilmercurio en monos seguían encontrándose elevadas concentraciones en el cerebro (283).

La vida media del mercurio inorgánico en el riñón es de 64 días (217), parecida a la vida media para todo el cuerpo. Al igual que en el caso del cerebro, para una fracción del mercurio la vida media es, probablemente, muy larga (381).

La vida media del mercurio en el pelo son parecidas a las encontradas en sangre pero con una variabilidad mayor 35-100 días (383).

Begerow et al, en 1994, determinan la concentración urinaria durante 14 meses en sujetos a los que se les había retirado todos los empastes de amalgama, encontrando una vida media de eliminación del mercurio urinario de 95 días (40).

4.- TOXICIDAD

En términos amplios, se entiende por acción tóxica o toxicidad a la capacidad relativa de un compuesto para ocasionar daños mediante efectos biológicos adversos, una vez ha alcanzado un punto susceptible del cuerpo. Esta posible acción tóxica significa que la exposición a los contaminantes comporta un riesgo, el cual se puede definir como la probabilidad de que produzcan los efectos adversos señalados, bajo las circunstancias concretas de la exposición (220).

La toxicidad es pues uno de los factores que determinan el riesgo, pero éste responde además a otros varios factores, como la intensidad y la duración de la exposición, la volatilidad del compuesto y el tamaño de las partículas. El concepto de toxicidad se refiere a los efectos biológicos adversos que pueden aparecer tras la interacción de la sustancia con el cuerpo, mientras que el concepto del riesgo incluye además la probabilidad de que se produzca una interacción efectiva (220).

4.1.- TOXICODINAMIA

Precipitante de proteínas

El ion Hg(II) forma fácilmente complejos con las moléculas biológicas, y especialmente con las proteínas, precipitándolas. Por este motivo, el Hg(II) es más tóxico que el Hg(I) . Los grupos $-\text{SH}$, cedidos, por ejemplo, por la cisteína, se unen espontáneamente al mercurio, dando lugar a complejos poliméricos polares en el caso de Hg(II) , y monoméricos no polares si se trata del ion monoalquilmercúrico. El ion mercurioso tiene muy escasa tendencia a formar complejos, por ello, mientras que el ión mercúrico es

fundamentalmente nefrotóxico, no ocurre lo mismo con el mercurioso o el monoalquilmercúrico. También el triptófano, la fenilalanina y la tirosina, parecen interaccionar con el mercurio. Asimismo, pueden formarse complejos mercúricos con el C, N y P como átomos ligantes, lo que explica su gran capacidad para desnaturalizar proteínas, actuando como cáustico y hapteno (259).

Inhibición de enzimas

Su facilidad para unirse a los grupos de sulhidrilo (SH), la acción precipitante de proteínas y su interferencia con el Zn, motivan su acción inhibidora irreversible de enzimas. Entre las enzimas cuya acción inhibe el mercurio podemos enumerar las siguientes: fosfatasa alcalina, fosfohidrolasa ácida, glucosa-6-fosfatasa, láctico deshidrogenasa y glutaminasa (259), succinodeshidrogenasa del ciclo de Krebs (163), cuya inhibición interrumpe la transferencia de los radicales de la cadena respiratoria y los mecanismos de fosforilación a ella acoplados, la monoaminoxidasa (MAO), apareciendo un aumento de la serotonina cerebral y las correspondientes perturbaciones en el sistema nervioso (163), δ -amino levulínico-deshidratasa, como el plomo, e interferir la síntesis del grupo hemo aunque sólo cuando la concentración de mercurio circulante es muy elevada (270).

La inhibición de la síntesis de proteínas en células nerviosas es un efecto del metilmercurio observado en animales que aparece antes que los primeros signos clínicos de intoxicación (383). La razón de la especial sensibilidad de la síntesis de proteínas al metilmercurio se desconoce (383). Para explicar esta sensibilidad, Jacobs et al, en 1977 sugieren que los grupos sulfhidrilo de los ribosomas que se encuentran expuestos durante la síntesis de péptidos son más vulnerables que aquellos, en otras proteínas, donde predomina la formación de puentes disulfuro (229).

Otros efectos tóxicos.

El Hg(II) es soluble tanto en agua como en disolventes polares. El metil y dimetil mercurio son muy liposolubles. Por ello, ambos se distribuyen en las membranas celulares, interactuando con sus proteínas y precipitándolas. Posiblemente por ello, aumentan su permeabilidad, dando lugar a liberación de enzimas desde los lisosomas, lo que supondría una vía más de ejercer su acción tóxica. Este trastorno de la membrana, también se produce en la mitocondria, y genera trastornos en la producción de energía de la célula. Este mismo efecto se produce en la membrana celular, por lo que la célula se edematiza. La facilidad del Hg(II) para formar complejos con biomoléculas utilizando el C,N,P y S como átomos ligantes, explica su capacidad para desnaturalizar el ADN y ARN, proteínas y lípidos, por lo que su acción sobre la membrana celular, retículo endotelial y el citoplasma es importante (259).

El metilmercurio también puede reaccionar directamente con importantes receptores del sistema nervioso, como muestra su efecto sobre receptores de acetilcolina en nervios periféricos que provocó casos de debilidad muscular en el caso de envenenamiento en Iraq (383). En el caso de exposición prenatal al metilmercurio, los efectos parecen ser bastante diferentes y de una naturaleza mucho más básica, afectándose el normal desarrollo neuronal (383).

En animales (284) (497) y en el hombre (179), la toxicidad de los derivados orgánicos e inorgánicos del mercurio disminuye por la administración de selenio, que parece actuar modificando la distribución histórica del mercurio (270). La acción protectora del ión selenio en el caso del metilmercurio no implica un aumento en la excreción de mercurio, sino que origina una alteración en su distribución con incremento de la concentración de mercurio en el cerebro (497) lo que sugiere que el efecto sobre la distribución del mercurio se realiza por medio de un mecanismo tisular específico, mas que por un mecanismo general que afecte a todos los tejidos por igual (169). En el hombre expuesto de manera crónica al mercurio (inorgánico u orgánico) se observa una acumulación paralela de selenio y mercurio en riñón (32) y el resto de los tejidos (253). Se ha sugerido que el efecto protector del ión selenio es debido a la formación de seleno-proteínas que reducen la toxicidad del mercurio por unión a éste (497). Chapman y Chan indican que una adecuada ingesta de selenio y zinc puede retrasar la toxicidad provocada por el metilmercurio (79). La reducción de la concentración de mercurio en pelo posterior a una pequeña suplementación con

selenio orgánico indica que el selenio puede ser útil en la prevención y tratamiento de la toxicidad por mercurio

4.2.- MANIFESTACIONES CLINICAS

La toxicidad depende de la especie inhalada o ingerida y en si la exposición es aguda o crónica. No son frecuentes las exposiciones agudas importantes y son normalmente debidas a accidentes industriales o acciones suicidas (68).

Mercurio metálico y sus compuestos inorgánicos

a) Intoxicación aguda.

Las formas más frecuentes se producen como consecuencia de la inhalación de vapores en atmósferas muy contaminadas (259), con ocasión de la extracción del metal de su mineral o el calentamiento de aleaciones de mercurio (amalgama oro-mercurio) (270), o por la ingestión de compuestos mercúricos, más absorbibles en general que los mercuriosos (259).

En la ***inhalación de vapores***, a concentraciones altas (1-3 mg/m³) (270), tras un corto periodo silente, como máximo de unas horas, aparecen lesiones en la mucosa respiratoria (68) (467), bronquitis (68) (467), edema (68), bronconeumonía e incluso neumonitis química (467). Tras un período variable, aunque de forma rápida (68), los síntomas revierten y se produce la fase de intoxicación sistémica (259), con dolor de cabeza, visión borrosa y encefalopatía (68). La exposición aguda por inhalación de vapores de mercurio puede verse seguida por dolor torácico, disnea, tos, hemoptisis, y a veces neumonitis intersticial que puede provocar la muerte (215) (381). En el accidente de Iwaki (Japón), en 1993, donde tres trabajadores fallecieron tras la inhalación de altas concentraciones de mercurio, durante dos o tres horas, los síntomas fueron dolor de cabeza, tos seca, dolor torácico, disnea, nauseas y vómitos, sin la aparición de signos neurológicos, que desembocaron en una insuficiencia

pulmonar y renal que les provocó la muerte (24). La inhalación aguda de vapor de mercurio puede provocar también toxicidad neurológica que se manifiestan con temblores, que comienzan en las manos, labilidad emocional, cefaleas y polineuropatía (215). El SNC es el órgano crítico para la exposición al vapor de mercurio. La exposición subaguda ha dado origen a reacciones psicóticas caracterizadas por delirio, alucinaciones y tendencias suicidas (381)

Aunque no es propiamente una intoxicación, tiene interés práctico la ***inyección intravascular de mercurio metálico***, relativamente frecuente en sopladores de vidrio, enfermos mentales y tentativas de suicidio. El único problema que se suele plantear en estos casos, son los fenómenos embólicos (72), a veces graves, y que pueden exigir la solución quirúrgica (259)

Reviste mayor gravedad la ingestión de sales mercúricas, aunque en los episodios no fatales, la recuperación suele ser total (163). Las manifestaciones clínicas características de la ***ingestión de compuestos inorgánicos*** del mercurio son inicialmente el síndrome gastroenterítico agudo de la ingestión de cáusticos (inflamación de boca, esófago e intestino (68)), seguido de insuficiencia renal con anuria, consecuencia de la necrosis de los túbulos renales (270), y uremia y colitis ulcerohemorrágica (270) (321) si la dosis es elevada (68). La ingestión de compuestos mercúricos, en particular cloruro mercúrico, ha provocado casos de gastroenteritis ulcerativa y necrosis tubular aguda, con muerte por anuria en los casos en que no se dispuso diálisis (381). Tras un periodo variable siguiente a la ingestión, y que depende de la cantidad del tóxico ingerido, así como si éste es directamente irritante o debe someterse previamente a su transformación química en el estómago, se producen vómitos incoercibles (270), a veces hemorrágicos (259). Si la cantidad eliminada mediante los vómitos es suficiente, disminuye la gravedad de la intoxicación. La mucosa orofaríngea está irritada y el enfermo tiene sensación de quemazón, que si afecta al esófago, se hace también retroesternal. Diferencia esta fase de los cuadros generados por otros compuestos cáusticos no mercuriales la intensa sialorrea típica del hidrargirismo y, que a veces, no sólo sale por las comisuras de los labios, sino que adquiere un aspecto de espuma. El dolor se va extendiendo al abdomen y comienzan a producirse diarreas muy abundantes. Tanto los vómitos como las heces son líquidos y, a veces, con sangre. La pérdida de agua e iones empeora la situación hemodinámica del enfermo y da lugar a calambres musculares. La

fase siguiente se sobreviene con rapidez: el enfermo entra en shock con hipotensión grave y taquicardia. Inicialmente el riñón responde a la presencia del mercurio con el desarrollo de una tubulopatía, lo que da lugar a una corta fase de poliuria, seguida por anuria y uremia. La orina tiene una gran cantidad de proteínas y cilindros (259). Dependiendo de la dosis absorbida el enfermo puede morir durante las primeras horas como consecuencia del shock, o bien por la uremia en el curso de los días siguientes; o por el contrario mejorar lentamente desarrollando algunas de las secuelas típicas de la intoxicación crónica (320). Aproximadamente hacia el segundo o tercer día de la intoxicación aparece la estomatitis mercurial. El mercurio eliminado a través de la saliva y mucosas irrita la encía inflamándole, y al precipitar por la acción del ácido sulfhídrico proveniente de la fermentación bacteriana en forma de sulfuro de mercurio negro, da lugar a un tatuaje oscuro de la encía (ribete gingival) (259), semejante al del plomo (270).

b) Intoxicación crónica

La forma más frecuente se produce como consecuencia de la inhalación de vapores (259). La intoxicación crónica constituye el denominado **hidrargirismo** y es la forma más habitual de la intoxicación profesional (163). En una primera fase (período de absorción) aparecen signos poco precisos: anorexia, astenia, cefalea, vértigo, insomnio, dolores en los miembros y masticación dolorosa (163). El cuadro se caracteriza por un síndrome neurológico-psiquiátrico, renal y estomatognático (259), que se denomina “síndrome vegetativo asténico” (250). Los trastornos neurológicos pueden recordar en un principio la esclerosis lateral amiotrófica (259).

Desde el punto de vista nervioso, la afectación inicial es un **temblor fino**, de más de 20 oscilaciones por minuto (163), de carácter eminentemente intencional (215) y que se manifiesta en la punta de los dedos cuando las manos están extendidas, los párpados y la punta de la lengua. El mercurio tiene una gran especificidad tóxica por las células granulosas del cerebelo, las células nerviosas del córtex calcarino y las células sensitivas de los ganglios dorsales. El temblor desaparece durante el sueño (163) (259) y empeora cuando el paciente se siente observado o está tenso aunque, al contrario de lo que ocurre en la esclerosis en placas, una vez iniciado el movimiento, éste se realiza relativamente bien (259). Resulta especialmente útil durante esta fase examinar su escritura, que permite

identificar en sus fases más iniciales el cuadro de tremor y, además, permite conservar el texto para comparar su posterior evolución. Ya en esta fase, si se procede a valorar el estado psiquiátrico del paciente, se manifiestan los primeros signos del cuadro demencial, con alteraciones significativas en los tests psicométricos con escala de deterioro. Los temblores cada vez se van haciendo más intensos hasta llegar a dificultar los movimientos, e incluso se producen cuadros cerebelosos con ataxia y movimientos de tipo coreico. El gran síntoma del hidrargirismo es el temblor (es conocida la expresión “tiembla como un azogado”) (163).

La alteración psíquica, denominada por los autores clásicos *eretismo mercurial*, sigue el curso de los temblores, y se caracteriza por amnesia retrógrada y anterógrada; labilidad afectiva con un gran retraimiento (456), lo que da lugar que en sus formas de inicio se confundan con trastornos neuróticos; insomnio y pérdida del apetito (259). Frecuentemente los enfermos se quejan de cefalalgias y vértigos, nerviosismo y escasa capacidad de concentración (259). En los casos más leves el eretismo y el temblor desaparecen poco a poco a lo largo de varios años, una vez interrumpida la exposición. Se ha demostrado en trabajadores expuestos al mercurio una menor velocidad de conducción nerviosa. La exposición a bajos niveles durante periodos largos se ha asociado a síntomas de eretismo menos pronunciados (381).

El riñón es el órgano crítico tras la ingestión de sales de mercurio bivalente inorgánico. La exposición profesional a mercurio metálico se asocia desde hace tiempo a la aparición de proteinuria, tanto en obreros con otros síntomas de envenenamiento por mercurio como en aquellos sin esos síntomas (381). En la intoxicación crónica profesional no es frecuente la presencia del síndrome nefrótico (163) (381), aunque también se ha producido tras el uso de cremas para aclarar la piel con mercurio inorgánico, e incluso tras la exposición accidental (381). El *síndrome renal* en el hidrargirismo se caracteriza por una nefropatía intersticial evolutiva que cursa hacia una insuficiencia renal crónica con hipertensión, retención de líquidos e iones y uremia (259). La eficacia del riñón para la eliminación del mercurio va disminuyendo según la insuficiencia renal va siendo más grave, por lo que la vida plasmática media se alarga, y el fenómeno de acumulación se intensifica. Debe considerarse la presencia de una posible nefropatía cuando se utilizan las determinaciones de mercurio en orina como indicador de la gravedad de la intoxicación. La relación entre la

concentración de sangre y orina va modificándose según la afectación renal es más intensa, y la fracción de eliminación urinaria es menor (259).

Las pruebas actuales sugieren que este síndrome nefrótico se debe a una respuesta inmunotóxica. Hasta hace poco, los efectos del vapor de mercurio elemental en el riñón se habían comunicado sólo con respecto a dosis más elevadas que las asociadas a la aparición de signos y síntomas del sistema nervioso central. En los nuevos estudios, no obstante, se han notificado efectos en el riñón con niveles inferiores de exposición (381). Estudios experimentales en animales muestran que los compuestos de mercurio tienen una actividad inmunomoduladora, pudiendo provocar una respuesta autoinmune y nefropatía membranosa (340). Una de las consecuencias de la etiología inmunológica es que, en ausencia de estudios de la dosis respuesta en grupos de individuos inmunológicamente sensibles, resulta científicamente imposible establecer un nivel de mercurio, en la sangre y orina, por debajo del cual, en casos individuales, no se producirán síntomas relacionados con el mercurio (381).

La *estomatitis mercurial* se produce como consecuencia de la eliminación de mercurio inorgánico a través de la saliva y su acción irritante en la mucosa oral (259). La intensa sialorrea es el signo premonitorio de la estomatitis, y muy frecuentemente de la propia intoxicación (259). La gingivitis química da un aspecto jugoso a las encías, que están enrojecidas y ligeramente hipertróficas (259). A veces se pueden encontrar pequeñas úlceras que secundariamente se infectan. La acción irritante química se suma a los procesos fermentativos bacterianos y origina la pérdida de piezas dentarias, e incluso necrosis del maxilar (259).

La *alergia* al mercurio no es muy frecuente (238), pero puede adoptar formas clínicas muy variables, como granulomas, liquen plano, dermatitis pustulosas generalizadas e, incluso, el síndrome de Lyell (259). Una forma muy peculiar de alergia es la producida por la fotodescomposición de los pigmentos rojos de mercurio-cadmio utilizados en los tatuajes de color rojo (259). En los sujetos con hipersensibilidad al mercurio debe valorarse la posibilidad de reacciones adversas a ciertos medicamentos, como vacunas o preparados tópicos, en los que se utilizan derivados mercuriales para su conservación (259). En mujeres con alergias a metales se observa una mayor excreción urinaria estimulada con DMPS de

mercurio (168).

Lorscheider et al, indican un aumento de la prevalencia de resistencia a varios antibióticos provocada por el mercurio liberado de las amalgamas dentales (299).

La *acrodinia*, “pink disease” o enfermedad rosa, enfermedad por calomelanos o síndrome de Von Feer es un cuadro característico por hipersensibilidad al mercurio, que sólo se produce en determinados individuos predispuestos, y que es más típica en los niños que en los sujetos adultos (259). Diversos datos epidemiológicos, permiten afirmar que los niños menores de 5 años tienen una mayor sensibilidad a los efectos neurotóxicos del mercurio(259). El empleo de los calomelanos como purgantes, en pomadas antihelmínticas y como antipsoriásicos es la etiología más frecuente. Este trastorno se caracteriza por rubefacción, prurito, hinchazón, taquicardia, elevación de la presión arterial, sialorrea o sudoración excesivas, irritabilidad, debilidad, exantemas morbiliformes y descamación palmoplantar (215). En los niños se puede producir además un cuadro neurológico complejo, caracterizado por la pérdida de tono muscular, por lo que adoptan posturas extremas en la cuna. Normalmente el cuadro desaparece lentamente una vez que cesa el contacto con el tóxico, pero vuelve a aparecer en cuanto se inicia de nuevo (259).

La acrodinia era relativamente frecuente en niños cuando los compuestos de mercurio, principalmente el cloruro de mercurio, era ampliamente utilizado en la terapia infantil (68) (381). La acrodinia no ha sido observada en niños con empastes de amalgama, lo que sugiere que la exposición al mercurio por los mismos, no es suficiente como para causar el síndrome (68).

También pueden aparecer lesiones dérmicas (215) (259). Tanto los vapores de mercurio como los compuestos de mercurio han dado origen a dermatitis de contacto (381) (583). Las personas que llenan termómetros y manómetros con mercurio pueden sufrir *dermatitis de contacto*, papulosas e hiperqueratósicas (163). También sufren dermatopatías pustulosas, localizadas en las manos, los antebrazos y, a veces, la cara, los obreros que manipulan fulminato de mercurio (163).

Una mayor concentración de mercurio en la excreción urinaria estimulada con DMPS, se

correlaciona con el aumento de desordenes hormonales (168), como la disfunción tiroidea, quizás coincidiendo con una mayor acumulación de mercurio en órganos endocrinos (362) (361).

Mediante la lámpara de hendidura se puede detectar un reflejo parduzco en la cápsula anterior del cristalino (signo de Akitson), bilateral y simétrico, que constituye generalmente un signo precoz de intoxicación mercurial (163). La percepción del color puede verse afectada, de forma reversible, por la presencia de mercurio a un nivel de exposición por encima de 35 µg/g CR (74).

La exposición a niveles elevados de mercurio *durante la gestación* se relaciona con un aumento en la incidencia de abortos y morbilidad perinatal (259). No sólo actúa como abortivo, sino que también disminuye la fertilidad, tanto en el varón como en la mujer, e incluso aumenta la incidencia de abortos cuando sólo es el padre quien está sometido a concentraciones elevadas de este metal (100). En trabajadores expuestos al mercurio (tanto orgánico como inorgánico) se dan casos de oligospermia y de esterilidad atribuibles a la inhibición de la síntesis de ADN en los testículos (163). La exposición intraútero al metilmercurio produce la forma congénita de la enfermedad de Minamata, caracterizada por graves lesiones en SNC (259). Aunque el mercurio puede atravesar la barrera placentaria y producir intoxicación en el feto y provocar malformaciones fetales (259), no está clara su posible acción teratógena (163).

Todos los derivados mercuriales tiene capacidad mutágena, pero hasta la fecha no se ha podido demostrar acción cancerígena (163). Aunque se ha sugerido que la exposición al mercurio aumenta la incidencia de tumores del SNC, los datos epidemiológicos y experimentales no son resolutivos (33).

En la mayoría de los casos, la intoxicación leve por mercurio inorgánico es reversible una vez eliminada la fuente de intoxicación (497). Como secuela de una intoxicación aguda pueden aparecer varios de los signos descritos en las formas crónicas. Estos suelen mejorar y hasta desaparecer en el curso de las semanas siguientes. Por el contrario, en la intoxicación crónica la afectación renal es irreversible, y aunque a veces se estabiliza, una vez iniciada puede continuar su evolución, independientemente de que cese la exposición al

mercurio. La afectación neurológica mejora escasamente, y el cuadro demencial debe considerarse irreversible. Así, en trabajadores que cesaron su actividad 20 -35 años antes, se aprecia disminución significativa de la audición y coordinación y aumento de temblores, encontrándose, además, mercurio en la orina (497). Estudios post-mortem en tejidos de individuos intoxicados han puesto de manifiesto la presencia del metal en los tejidos 16 años después de la muerte (497). La hipersialorrea y la gingivitis mercurial curan totalmente (259).

Compuestos orgánicos

Dependiendo de la facilidad para desdoblarse en el organismo en el radical orgánico y el mercurio inorgánico, se pueden clasificar en dos grupos. Dentro del grupo que se desdoblan fácilmente, los más utilizados son el fenilmercurio y el metoxietilmercurio, compuestos muy volátiles y solubles, que se absorben con facilidad y que a medida que se produce la biotransformación van liberando mercurio. La toxicidad dependerá de la velocidad de desdoblamiento (163). El compuesto más importante, desde el punto de vista médico, dentro de los compuestos que no se disocian o que lo hacen con dificultad, es el metilmercurio (163).

Los compuestos alquílicos del mercurio producen cuadros similares a los inorgánicos (259). Su elevada liposolubilidad permite que se absorban por vía dérmica cuando se manipulan y, en los casos de intoxicación, que su distribución se haga mayoritariamente en el SNC, por lo que los cuadros clínicos tienen un marcado componente neurológico-psiquiátrico (77). El sistema nervioso es el principal tejido afectado en el ser humano adulto, el daño está casi exclusivamente limitado al sistema nervioso, especialmente al SNC, quedando las áreas dañadas del cerebro muy bien delimitadas (383). La coordinación, las funciones auditiva, sensorial y visual, son las funciones generalmente afectadas (383).

En general, antes de la aparición de síntomas graves de intoxicación hay un periodo de latencia de dos (68) o varias semanas (270) e incluso meses (383), de causa desconocida (383), con posibles trastornos de la personalidad (270). Periodo prodrómico caracterizado por

astenia, laxitud, apatía (163) (270), parestesias (383) en los dedos y en la boca (270), visión borrosa (383), malestar (383), miedo depresión y, a veces, deterioro intelectual (163).

Cuando la absorción se produce como consecuencia de manipular derivados alquílicos del mercurio, se producen parestesias y anestesia en los miembros superiores, más marcadas en las manos que han estado en contacto con el tóxico. Los compuestos arílicos son menos liposolubles que los anteriores, y menos cáusticos que los compuestos inorgánicos. Su acción tóxica es también similar a la de éstos (68), si bien la nefropatía suele ser más precoz. (259). La exposición crónica al mercurio elemental, mercurio inorgánico y fenilmercurio produce efectos similares (68), que consisten en dermatitis, gingivitis, salivación, estomatitis y eretismo (68).

La exposición aguda a metilmercurio provoca efectos similares a los provocados en una exposición crónica pero la aparición de aparición más rápida (68). La exposición crónica provoca ataxia, disartria, pérdida de visión, neuropatía periférica y defectos cognitivos y emocionales (68). Los daños en los casos graves son irreversibles debido a la destrucción neuronal (383).

Los compuestos organomercuriales pueden producir esterilidad en el varón y atrofia testicular (259), lesiones del nervio óptico (270) con estrechamiento del campo visual, trastornos atácticos, alteraciones del lenguaje, vértigos y lesiones acústicas (259).

Los casos graves cursan con albuminuria, temblor intencional (igual que en el hidrargirismo), espasticidad y parálisis (163). La autopsia demuestra que los síntomas descritos son consecuencia de una neuroencefalopatía tóxica, con afectación del cerebro y cerebelo (163). Esta intoxicación no tiene nada en común con la clásica excepto el temblor (163).

Aunque sólo se encuentra en determinados laboratorios, el dimetilmercurio es un compuesto extremadamente tóxico y peligroso que se absorbe con facilidad a través de la piel incluso a través de los guantes de latex (214). La exposición a 400 mg puede provocar el suficiente daño en el SNC, especialmente en el cerebelo, como para causar la muerte

(214).

La experiencia japonesa indica que el feto es especialmente sensible a la acción del metilmercurio (214), que es considerado como un teratógeno humano (270). El sistema nervioso central en desarrollo es más sensible a la acción tóxica del metilmercurio que el sistema nervioso adulto (383). La afección del sistema nervioso fetal por el metilmercurio puede ser resultado no sólo de la particular sensibilidad del sistema nervioso en desarrollo a un neurotóxico, sino a una acumulación más importante del metilmercurio en el cerebro del feto en relación al de la madre (270). Los signos clínicos son dosis-dependiente (383). Las características principales que se presentan en este tipo de intoxicación son, según el informe sobre metilmercurio de la OMS en 1990 (383):

- Microcefalia
- Hiperreflexia
- Deterioro del movimiento grosero
- Deterioro intelectual asociado con ceguera y o sordera

La exposición excesiva puede también incurrir durante el periodo postnatal por el paso del metilmercurio a la leche materna (270). En aquellos fetos expuestos a altas dosis de mercurio en la sangre materna se presenta una parálisis cerebral indistinguible de otras causadas por otros factores (383).

Las intoxicaciones moderadas no son fáciles de observar en los primeros meses de vida, pero más adelante se hacen manifiestas (383), se presentan, principalmente, por deterioro psicomotor y persistencia de reflejos patológicos (383).

En autopsias realizadas en niños intoxicados durante su desarrollo fetal con metilmercurio se observan daños generalizados en el cerebro, a diferencia de los daños focalizados que se presentan en la exposición de adultos (383).

4.2.- RELACIÓN DOSIS-RESPUESTA

Se denomina relación dosis-efecto a la correspondencia entre la dosis de exposición y la magnitud de un efecto específico en un individuo determinado, y se entiende como relación dosis-respuesta a la correspondencia entre la dosis de exposición y la proporción de individuos, dentro de un grupo de sujetos definido, que presentan un efecto específico con una magnitud determinada (220). El conocimiento completo de estas relaciones permite la determinación de la dosis máxima con la que no se observa respuesta en condiciones definidas, es decir, el nivel umbral de respuesta, de evidente interés en prevención (220).

La correlación entre los síntomas clínicos y la concentración de mercurio en sangre total depende del tipo de compuesto de mercurio (orgánico o inorgánico) y la duración de la exposición (581).

Vapor de mercurio

La relación entre la concentración de mercurio y sus posibles efectos adversos está más estudiada en el caso del mercurio urinario que en el sanguíneo (36).

Parece existir una relación entre la evolución de las tasas de mercurio urinario en el curso del tiempo y las primeras manifestaciones subclínicas (temblor, modificaciones electromiográficas y efectos psicomotores) (270).

- a) Cuando la exposición esta por encima de $80 \mu\text{g}/\text{m}^3$, lo que se corresponde con una concentración urinaria de $100 \mu\text{g}/\text{g}$ creatinina, la probabilidad de desarrollar los síntomas neurológicos clásicos de una intoxicación por mercurio (temblor, eretismo) y proteinuria es elevada (381). Los adultos más sensibles experimentan temblor después de una exposición prolongada entre 100 y $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (497). Se pueden desarrollar síntomas cuando los niveles de mercurio en sangre y orina superan los $200 \mu\text{g}/\text{L}$ y $60 \mu\text{g}/\text{L}$, respectivamente (215). Pueden aparecer síntomas manifiestos de intoxicación cuando se sobrepasan los $300 \mu\text{g}/\text{L}$ (469). Cuando el mercurio urinario es inferior a $300 \mu\text{g}/\text{L}$, no suelen aparecer manifestaciones

clínicas de envenenamiento si la función renal no está alterada (270).

- b) Una exposición en el rango de 25 a 80 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, que se corresponde con una concentración urinaria de 30 a 100 $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinina, aumenta la incidencia de ciertos efectos tóxicos menos graves que no conducen a síntomas clínicos (que se observan aunque exista daño) (381). Estos efectos sutiles son defectos psicomotores, temblor objetivamente detectable y daño en la velocidad de transmisión nerviosa, que se presentan sólo en individuos particularmente sensibles (381). También aparecen otros síntomas subjetivos como fatiga, irritabilidad y pérdida de apetito (381). En unos pocos estudios se correlacionan bajas concentraciones de mercurio urinario (25-35 $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinina) con temblores detectados electrofisiológicamente. La mayor parte de los estudios publicados no encuentran una relación dosis efecto. Parte de la población expuesta presenta proteinuria. Los estudios realizados hasta el momento son, generalmente, de pocas muestras y de bajo poder estadístico (381). Para Zapatero y García de Jalón, los síntomas comienzan a aparecer a concentraciones entre 100 nmol/L (20 $\mu\text{g}/\text{L}$) y 250 nmol/L (50 $\mu\text{g}/\text{L}$) (581).
- c) No hay estudios epidemiológicos que cubran una exposición correspondiente a unos niveles de mercurio en orina de 30-50 $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinina (381). No se puede descartar que pequeños efectos adversos se pueden observar en individuos especialmente sensibles (381).

En el caso de mujeres embarazadas la prudencia indica que la exposición al mercurio debe ser lo más baja posible, aunque no se puede dar un cifra concreta (381).

El mercurio metálico es prácticamente atóxico por vía digestiva, pero atmósferas saturadas de mercurio a temperatura ambiente producen neumonitis química e intoxicaciones agudas sistémicas (259). Conviene recordar que la ingesta de mercurio metálico sólo reviste peligro, salvo reacción adversa o anomalía anatómica, si se hace habitualmente (204). La dosis por vía respiratoria que la NIOSH considera inmediatamente peligrosa para la vida o la salud (IDLH) para los compuestos de mercurio, a excepción de los compuestos de alquimercurio, es de 10 mg Hg/m^3 (352).

Compuestos de mercurio inorgánico

La valoración del riesgo a la exposición a los compuestos de mercurio inorgánico está dificultada por la falta de datos adecuados que traten de la relación dosis efecto (381).

La ingestión de gramos de cloruro mercúrico provoca daños en los túbulos renales de severos a letales y necrosis de la mucosa gastrointestinal. A bajas dosis se produce un daño tubular menos pronunciado, que se refleja en aminoaciduria, diuresis incrementada y pérdida de enzimas renales en la orina (381).

La valoración del riesgo tóxico es especialmente problemática puesto que el mercurio inorgánico puede provocar reacciones alérgicas e inmunotóxicas que, en parte, tiene un origen genético (381). Al no existir datos publicados de efectos inmunológicos en personas sensibles, no se puede establecer un nivel de mercurio por debajo del cual no se observen síntomas clínicos (381). La prevalencia de la reacción inmunitaria aumenta con la dosis de mercurio (II) y con el tiempo de exposición, aunque es difícil establecer la cuantificación de la respuesta a diferentes dosis o niveles de exposición (497). A partir de estudios en animales se estima una dosis oral mínima para observar un efecto adverso renal en el ser humano de 15,8 mg/día (381), la misma dosis por vía inhalatoria para una exposición de 24 horas para el público en general sería de 0,069 mg/m³ y para una exposición de 8 horas diarias 0,139 mg/m³ (381). Estos niveles de exposición están por encima de los niveles de vapor de mercurio que provocan daño neurológico y efectos renales (381).

La dosis mortal por vía oral para las distintas sales mercúricas es de aproximadamente 1 g (497). En el caso del cloruro mercúrico, o sublimado corrosivo, la ingestión de 100-200 mg es suficiente para producir intoxicaciones graves, e incluso mortales. Por el contrario, el cloruro mercurioso o calomel, al ser poco soluble, puede ingerirse en dosis de hasta varios gramos sin que se produzcan fenómenos de toxicidad aguda (259).

Compuestos de mercurio orgánico

Una ingesta diaria de metilmercurio de 0,48 µg/kg de peso no provoca efectos adversos apreciables (383). Sin embargo, una ingesta de 3 a 7 µg/kg puede causar efectos adversos en el SNC, que se manifiestan como parestesia en el 5% de los casos (383). La concentración en el pelo será, a este nivel de ingesta, de 50 a 125 µg/g (383). La absorción diaria prolongada de 0,3 mg de Hg (en forma de metilmercurio) que correspondería a 4 µg/Kg/día podría dar lugar a manifestaciones neurotóxicas (270). La Agencia de protección del Medio Ambiente de los EE.UU. (EPA) marca una dosis de referencia (RfD) para el metilmercurio de 0,3 µg/Kg de peso/día, como aquella dosis cuyo consumo durante toda la vida no es probable que origine efectos tóxicos no cancerígenos (530).

Las mujeres embarazadas pueden sufrir efectos a niveles de exposición inferiores de metilmercurio (383). El nivel más bajo (máxima concentración en el pelo de la madre durante el embarazo) en el que se han observado graves efectos en los fetos fue de 400 µg/g (383). Puede producirse una disfunción neuroconductual en niños cuando la concentración materna de mercurio en el pelo supera 6 µg/g (215). Un pico de 70 µg/g en cabello de la madre gestante conlleva un riesgo de trastorno neurológico del feto de más de un 30 % (383). Los signos clínicos de la toxicidad del mercurio en el feto son dosis-dependiente (383), con un rango desde cambios sutiles en la función cerebral a severo síndrome neurológico con pronunciados cambios en la estructura (497).

Las intoxicaciones masivas han sido la base del conocimiento de la relación dosis-efecto del metilmercurio, aunque son pocos los datos disponibles (497). Después de la catástrofe que ocurrió en Irak en 1972, donde 6.350 personas se intoxicaron al consumir harina contaminada con metilmercurio (4,8 a 14,6 µg/g de harina), se ha apreciado que en esta población (peso medio: 51 kg) los primeros síntomas aparecieron cuando el individuo había acumulado de 25 a 40 mg de metilmercurio. Parestesias, ataxia, disartria y trastornos de la audición aparecieron por este orden para cargas corporales respectivas de 25, 55, 90 y 170 mg (270). La media de mercurio en sangre publicada en dos casos mortales de toxicidad a metilmercurio fue de 750 nmol/L (150 µg/L) (207) (572).

Los signos neurológicos producidos por el metilmercurio se producen cuando la concentración en el cerebro llega a las 8 ppm o más (lo que corresponde a 12 mg para el conjunto del cerebro). No obstante, parece que en una baja proporción de la población los síntomas parestéticos pueden aparecer cuando la concentración del metilmercurio en el cerebro llega a 1 ppm, lo que corresponde a una concentración en la sangre total de 200 µg/L a 500 µg/L, o a una concentración en el cabello de alrededor de 50 a 125 µg/g (270). Esta concentración crítica ha sido confirmada en estudios en el mono (270). Se dispone de muy poca información sobre los niveles cerebrales de mercurio en los casos de envenenamiento, y no se sabe nada que permita estimar una concentración carente de efectos observados o una curva dosis-respuesta (381).

La dosis fatal para el hombre se estima en 1 mg/día durante varias semanas (270). La cantidad tolerable diaria se estima en 0,03 mg/día para un adulto de 70 kg (0,4 µg/kg/día) (270). La dosis por vía respiratoria que la NIOSH considera inmediatamente peligrosa para la vida o la salud (IDLH) para los compuestos de alquilmercurio es de 2 mg Hg/m³ (352).

5.- PREVENCIÓN

Desde el punto de vista de la prevención de los riesgos de higiene en el trabajo, los índices de toxicidad DL_{50} , e incluso los índices CL_{50} , no son de gran utilidad práctica, ya que no permiten deducir unos niveles admisibles de exposición (220).

Para establecer unas adecuadas medidas preventivas sería preciso conocer las relaciones dosis-efecto y dosis-respuesta de cada posible contaminante para poder deducir los niveles máximos de concentración ambiental que no producen efectos nocivos ni desagradables bajo una exposición crónica, principalmente en el punto referente a valores umbral de respuesta. El conocimiento de estas relaciones no es fácil, ni es siempre posible la determinación de los umbrales de respuesta, dado el amplio margen de la sensibilidad del organismo humano (220). Por estos motivos, los indicados niveles deben establecerse en función de toda la información alternativa disponible, sea toxicológica, epidemiológica o clínica (220).

De este modo se han elaborado varias listas de niveles ambientales admisibles, que obedecen a criterios y datos no siempre coincidentes. La lista de más amplia aceptación en los países occidentales es la debida a la “American Conference of Governmental Industrial Hygienists” (ACGIH) de EE.UU. y que se denomina “Threshold Limit Values” (TLV) o sea valores límites umbral. Otras listas importantes son los valores MAK (Concentraciones máximas admisibles) de la República Federal Alemana, los valores MAC de la antigua U.R.S.S. y los valores límites de Suecia (220).

En España, excepto para aquellos compuestos que disponían de reglamentación específica (plomo, amianto y cloruro de vinilo monómero) se han venido aplicando los límites propuestos por la American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH), dado el carácter obsoleto de los límites de exposición establecidos por el Reglamento de actividades molestas, insalubres, nocivas y peligrosas de 1961 (223).

La relación de los TLV americanos incluye tres categorías de valores (4):

- TLV-TWA: Límites de exposición o concentraciones medias ponderadas en el tiempo, para jornadas normales de 8 horas o 40 horas semanales, a las cuales la mayoría de los trabajadores puede estar expuesta repetidamente día tras día sin sufrir efectos adversos.
- TLV-STEL: Límites de exposición para cortos periodos de tiempo o concentraciones medias ponderadas para períodos de 15 minutos a las que pueden estar expuestos los trabajadores, durante cualquier período continuo de esta duración en el transcurso de la jornada de trabajo, sin sufrir una irritación intolerable, un cambio crónico o irreversible en los tejidos o una narcosis en grado suficiente como para que se incremente la predisposición al accidente, se dificulten las reacciones de defensa o se reduzcan más de 4 de estas situaciones por día, estando espaciadas como mínimo en 60 minutos y no excediéndose el TLV-TWA diario.
- TLV-C: Valores techo o concentraciones no sobrepasables en ningún instante.

La relación de los TLV, además de estos tres tipos de valores, incluye para determinadas sustancias la notación "Vía dérmica" ("Skin") para indicar que es posible una entrada importante en el organismo a través de la piel, la cual si se produce efectivamente invalida el valor TLV asignado. Finalmente, en un apéndice, se relacionan los compuestos de los que se posee alguna evidencia de producir efectos cancerígenos, tanto los que tienen valor TLV asignado como los que no lo tienen.

Los valores TLV, como cualquier otro valor de nivel ambiental admisible para exposiciones laborales, no deben ser utilizados como índice relativo de riesgo o toxicidad, ni en la evaluación o control de la contaminación ambiental extralaboral. Estos valores sólo representan las condiciones bajo las que cabe esperar, de acuerdo con los conocimientos de que se dispone, que la casi totalidad de trabajadores pueden estar expuestos repetidamente, día tras día, sin manifestar efectos adversos. Un pequeño porcentaje de trabajadores puede, no obstante, experimentar efectos adversos debido a la amplia variabilidad de la susceptibilidad individual (220).

En Europa, a partir de la Directiva 98/24/CE en la que se determina la obligación de los países comunitarios de disponer, a criterio de cada país, de Límites de Exposición

Nacionales, se exige la existencia de unos Límites de Exposición Profesional (LEP) indicativos y otros vinculantes. En aplicación de la Directiva anterior, se establece una primera lista de valores límite de exposición profesional indicativos en la Directiva 2000/39/CE (219). La mayoría de los LEP son indicativos, que los estados miembros deben tener en cuenta al establecer sus respectivas legislaciones, aunque existe una pequeña lista de LEP vinculantes para los que los valores nacionales no pueden ser menos restrictivos que los comunitarios (223). Con la trasposición de esta Directiva al ordenamiento jurídico español mediante el Real Decreto 374/2001 se consideran como valores de referencia los publicados por el INSHT para aquellos agentes químicos que carezcan de valores límite reglamentarios (422).

En el mencionado Real Decreto se definen unos valores límite ambientales con el mismo significado que los TLV. El valor límite ambiental para la exposición diaria VLA-ED como el valor límite de la concentración media, medida o calculada de forma ponderada con respecto al tiempo para la jornada laboral real y referida a una jornada estándar de ocho horas diarias, a semejanza del TLV-TWA y el valor límite ambiental para exposiciones de corta duración como el valor límite de la concentración media, medida o calculada para cualquier período de quince minutos a lo largo de la jornada laboral, excepto para aquellos agentes químicos para los que se especifique un período de referencia inferior, a semejanza del TLV-STEL (422).

Para los agentes químicos que tiene asignado VLA-ED pero no VLA-EC, se establece el triple del VLA-ED como valor que no deberá superarse durante más de 30 minutos en total a lo largo de la jornada de trabajo, no debiéndose sobrepasar en ningún momento el quíntuplo del VLA-ED (219).

La ACGIH ha propuesto un TLV de $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ para los vapores de mercurio y derivados inorgánicos (366) (368). El TLV para los aril compuestos es $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (366), y el de los compuestos alquílicos diez veces menor, $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (367). Los VLA para el mercurio coinciden con los recomendados por la ACGIH (219). Las mujeres embarazadas no deberán estar expuestas a trabajos con mercurio (163). El alcoholismo será siempre una contraindicación absoluta (163).

Se tiende a reemplazar el mercurio por sustancias menos peligrosas (por ejemplo, el nitrato de plata ha sustituido a la amalgama de estaño-mercurio para la fabricación de espejos) o, en el caso de mercurio orgánico, reemplazar, por ejemplo los derivados etilados y metilados del mercurio por derivados fenilados, que son activos como fungicidas y son menos tóxicos (270).

Las medidas preventivas que se aplican en las minas incluyen la humidificación y la utilización de martillos neumáticos con pulverización de agua junto con una apropiada ventilación (270). Los suelos de los locales donde se emplee el mercurio metal deben ser lisos, sin rugosidades ni grietas, e inclinados (163). Cuando se derrama, se desliza fácilmente por las rendijas y los intersticios del suelo. Como se evapora a temperatura ambiente, puede que se dé una concentración atmosférica peligrosa, aun cuando el grado de contaminación parezca insignificante. Una vez derramado existen procedimientos para su neutralización (270). Debe realizarse una limpieza diaria, sistemática y completa de todos los lugares de trabajo (163). Si es posible, es necesario evitar que aumente la ventilación de todo el taller, porque se correría el riesgo de aumentar considerablemente la evaporación del mercurio. Es preferible instalar sistemas de aspiración del aire donde el mercurio se libera (163), por ejemplo, campanas en los gabinetes odontológicos (270). No se deben utilizar sistemas de ventilación que signifiquen reciclaje del aire (163). Los recipientes que contengan mercurio deben estar cerrados herméticamente y sellados con una capa de parafina o agua (259). En el caso de mercurio orgánico, se debe evitar la inhalación y el contacto con la piel (270).

El personal que trabaja con mercurio debe conocer los riesgos que entraña su manipulación (163). En los locales de trabajo se deben tener en cuenta unas reglas de limpieza especiales que incluyen la prohibición de fumar y comer en los locales de trabajo (270) y ducha obligatoria al final de la jornada de trabajo (163). Los vestuarios deben encontrarse separados del lugar de trabajo y distintos para los vestidos de trabajo y los de la calle (163) (270). La utilización de mascarillas, en operaciones peligrosas, guantes y vestidos de trabajo, es imprescindible (163) (270).

Las personas que tengan trastornos cutáneos no pueden ser contratadas para manipular mercurio y en especial fulminato de mercurio. Hay que evitar que tengan contacto con el

mercurio quienes padezcan una afección renal, sufran gingivitis o cualquier afección bucal (163) (270). Es interesante determinar, en un examen médico previo a la incorporación al puesto de trabajo, la concentración de mercurio urinario para disponer un valor de referencia (270).

Se cumplirá un protocolo de vigilancia médica (222). La precocidad con que muchos trabajadores desarrollan nefropatías por exposición a este metal (50), que por otra parte potencia y acelera la nefropatía por otras causas, requiere el control periódico de la función renal en toda persona potencialmente expuesta, así como una estricta valoración neurológica (259). La frecuencia del reconocimiento será, como mínimo, semestral (163).

Para las clínicas odontológicas, la American Dental Association (ADA) y la British Dental Association (BDA) recomiendan (130):

- Higiene personal
- Control ambiente laboral
- Formación del personal
- Procedimientos adecuados para los trabajos con amalgama (dado que, por ejemplo, la remoción sin la utilización de agua aumenta la exposición al mercurio)
- Control de residuos de amalgama y mercurio
- Monitorización de la exposición de mercurio

5.1.- MONITORIZACIÓN

La monitorización biológica comprende el muestreo y análisis de especímenes biológicos para proporcionar un índice de exposición a una sustancia tóxica o su metabolito (370).

Para evaluar la exposición se utiliza un indicador biológico definido por el INSHT como “un parámetro apropiado en un medio biológico del trabajador, que se mide en un momento determinado, y está asociado, directa o indirectamente, con la exposición global, es decir, por todas las vías de entrada, a un agente químico” (219).

Los indicadores biológicos pueden ser de dosis, aquellos en los que se mide la concentración del agente químico o alguno de sus metabolitos, o indicadores biológicos de efecto, parámetros que pueden identificar alteraciones bioquímicas reversibles, inducidas de modo característico por el agente químico al que está expuesto el trabajador (219).

Indicadores biológicos

Como medios biológicos se utilizan el aire exhalado, la orina, la sangre y otros. Sea cuál fuere el parámetro, el medio en que se mida y el momento de la toma de muestra, la medida puede indicar la intensidad de una exposición reciente, la exposición promedio diaria, o la cantidad total del agente acumulada en el organismo, es decir, la carga corporal total (219).

Los valores límite biológicos (VLB) son los valores de referencia para los indicadores biológicos asociados a la exposición global a los agentes químicos. Los VLB son aplicables para exposiciones profesionales de 8 horas diarias durante 5 días a la semana. La extensión de los VLB a periodos distintos al de referencia ha de hacerse considerando los datos farmacocinéticos y farmacodinámicos del agente en particular (219).

En general, los VLB representan los niveles más probables de los indicadores biológicos en trabajadores sanos sometidos a una exposición global a agentes químicos, equivalente, en términos de dosis absorbida, a una exposición exclusivamente por inhalación del orden del VLA-ED. La excepción a esta regla la constituyen algunos agentes para los que los VLA asignados protegen contra efectos no sistémicos, en los que los VLB pueden representar dosis absorbidas superiores a las que se derivarían de una exposición por inhalación al VLA (219).

Los VLB no están concebidos para usarse como medida de los efectos adversos ni para el diagnóstico de las enfermedades profesionales. El control biológico debe considerarse complementario del control ambiental, pudiéndose usar para complementar la valoración ambiental, para comprobar la eficacia de los equipos de protección individual o para detectar una posible absorción dérmica y/o gastrointestinal (219).

Cuando la medida, en un trabajador, de un determinado indicador biológico supere el VLB correspondiente no debe deducirse, sin mayor análisis, que ese trabajador esté sometido a una exposición excesiva, ya que las diferencias individuales, biológicas o de conducta, tanto fuera como dentro del ámbito laboral, constituyen fuentes de inconsistencia entre los resultados del control ambiental y los del control biológico (219).

Al igual que con los TLV, la "American Conference of Governmental Industrial Hygienists" (ACGIH) recomienda unos índices de exposición biológica (BEI) para las distintas sustancias tóxicas que, aunque en la actualidad representan las concentraciones de las mismas en el medio biológico en las condiciones de exposición de los TLV, se pretende que en las nuevas revisiones se tengan en cuenta criterios farmacocinéticos y farmacodinámicos (338).

Para la población general, no expuesta laboralmente, los valores de referencia para la Comisión para la Monitorización Biológica Humana de la Agencia Federal de Medioambiente de Alemania son aquellos que indican el margen superior de un índice de exposición a un determinado tóxico. Se utilizan para identificar aquellos sujetos con un

índice de exposición superior al que se haya expuesto la población general. Sin embargo, el valor de referencia no se basa en un criterio de salud. Para esto último, la agencia marca unos valores para la monitorización biológica humana (HBM). Normalmente se recomiendan dos valores HBM diferentes: HBM I, por debajo del cual no hay riesgo de efectos tóxicos; y HBM II, por encima del cual hay un elevado riesgo de presentar efectos tóxicos. El HBM I se puede considerar como un valor de alerta y el HBM II como un valor de acción (145).

La volatilidad y fácil absorción dérmica del metal y la mayor parte de los compuestos de mercurio, le convierten en un tóxico difícil de controlar, por lo que es necesario que, además de las medidas de higiene industrial estrictas, se hagan frecuentes controles biológicos de exposición, midiendo sus niveles en orina y/o sangre (259). Además, en un local donde se utiliza mercurio metálico, la concentración media de mercurio en la atmósfera no es necesariamente el reflejo de la concentración de mercurio en las vías respiratorias de los trabajadores (microambiente debido a la contaminación de vestidos y de las manos) (270).

a) Valoración del mercurio en sangre

Los indicadores biológicos medidos en sangre, mientras no se indique lo contrario, se entenderá que la muestra debe ser tomada en sangre venosa (219).

Una exposición de 40 μg de mercurio/ m^3 de aire corresponderá a unos 15-20 $\mu\text{g/L}$ de mercurio en sangre (381). Bajo duraderas y constantes condiciones de exposición, la relación entre la concentración de mercurio en el aire ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) y las concentraciones de mercurio en sangre ($\mu\text{g/L}$) son 1:0,45 (433). La interferencia debida a la exposición al metilmercurio puede dificultar la evaluación de la exposición a bajas concentraciones de mercurio inorgánico por medio de análisis de sangre (36) (381). Una forma de evitar este problema puede ser la determinación de mercurio en plasma o la especiación del mercurio (131). El problema de la interferencia debida al metilmercurio es mucho menor cuando se analiza la orina, puesto que el metilmercurio se excreta con la orina en grado sumamente

reducido (381).

La concentración de mercurio sanguínea está influenciada por una exposición reciente (días) (34) (581), mientras que la concentración urinaria está, probablemente, relacionada con el contenido de mercurio en riñón (34).

La concentración de mercurio en sangre es un excelente reflejo de la carga corporal de mercurio orgánico que no debería sobrepasar los 20 µg/L (270). El INSHT marca un VLB para el mercurio elemental y sus compuestos inorgánicos en sangre de 15 µg/L (219), idéntico al índice de exposición biológico (BEI) de la ACGIH (338), mientras que para la población no laboralmente expuesta el HBM I alemán es de 5 µg/L y el HBM II de 15 µg/L (145). Según el Comité de Expertos reunidos en 1969 (426), la concentración de mercurio en la sangre total de las personas expuestas a los derivados etilados y metilados de mercurio no debería sobrepasar 100 µg/L (270). Los niveles de mercurio en sangre y orina no deben superar 36 µg/L y 15 µg/L, respectivamente (215).

Gothe y Langworth, en 1985, indican unos valores normales entre 10 y 14 µg/L, unos valores que indican exposición entre 14 y 30 µg/L y unos valores que requieren un control específico del trabajador de 30 a 60 µg/L por encima del cual indican la necesidad de interrumpir la exposición (177).

Los valores de referencia de mercurio en individuos no expuestos son inferiores a 20 nmol/L (4 µg/L) en suero (581) y 8 µg/L en sangre total (383). Aunque la variación individual es elevada, la concentración media de mercurio total en sangre total, para personas sin consumo de pescado con altas concentraciones de mercurio es del orden de 5 a 10 µg/L y en cabello de 1-2 mg/kg (381). Sin embargo, la Comisión para la Monitorización Biológica Humana de la Agencia Federal de Medioambiente de Alemania, indica un valor de referencia de 2 µg/L (145).

b) Valoración del mercurio en orina

En un medio contaminado, principalmente industrial, se debe evitar cualquier tipo de contaminación en la toma de muestra, debiéndose ser realizada después de una ducha o, por lo menos, después de lavarse las manos (270).

Los indicadores biológicos medidos en orina son habitualmente analizados en muestras puntuales tomadas en momentos determinados, ya que en el entorno laboral no es fácil obtener muestras de orina correspondientes a períodos largos de tiempo, ni éstas serían del todo fiables, aunque tomadas de forma correcta proporcionarían una información más exacta sobre la eliminación del xenobiótico (219). Sin embargo, la medida cuantitativa de la exposición a partir de muestras puntuales puede verse afectada por la variabilidad en la producción de orina, debido a factores como la ingestión de líquidos, la temperatura excesiva, la carga de trabajo, el consumo de medicamentos, que pueden producir efectos de concentración o dilución de la orina y afectar así al resultado de los indicadores (219). Por lo tanto, es necesario corregir estos resultados, refiriéndolos a la concentración de alguna sustancia con mecanismo de excreción renal similar al del compuesto de interés y cuya eliminación se mantenga razonablemente constante a lo largo del tiempo (219).

Es habitual referir los resultados a la concentración de creatinina, que se elimina por filtración glomerular como la mayoría de los contaminantes y sus metabolitos (219). La muestra ideal sería la orina de 24 horas o, si no es posible, la orina recogida al final de la jornada de trabajo, corrigiendo el resultado de acuerdo con la concentración de creatinina o la densidad (270) (381) (555). La utilización de mercurio/creatinina es una solución de compromiso para poder tomar muestras fácilmente. En general, correlaciona bien con el mercurio 24 horas (68).

Se rechazarán las muestras de orina muy diluidas (densidad menor de 1,010 g/ml o creatinina inferior a 0,5 g/L) y las muy concentradas (densidad mayor de 1,030 g/ml o creatinina superior a 3 g/L), debiendo repetirse en estos casos la toma de muestra (219). Cuando se producen velocidades de producción de orina altas o bajas la correlación del parámetro referido a creatinina y el parámetro referido a orina de 24 horas disminuye y, por lo tanto, también con concentraciones extremas de creatinina (68).

La orina no es útil para determinar la exposición al metilmercurio dada la pequeña cantidad

excretada por esta vía (163) (270) (383).

Si la exposición no es constante, la relación entre la concentración de mercurio en el aire, la concentración de mercurio sanguínea y la concentración de mercurio urinaria no tiene ninguna relevancia (34), pudiendo dar concentraciones muy elevadas en sangre y muy débiles en orina (581). Para cada individuo, la excreción urinaria de mercurio no es necesariamente proporcional al grado de exposición y es fluctuante (270) (581), pero cuando la exposición es relativamente estable, hay una excelente correlación entre la intensidad de la exposición y la concentración urinaria al final de una pausa o 16 horas después de terminar la exposición (inicio de la pausa siguiente) (433). Así, la concentración de mercurio en orina sólo se correlaciona con la exposición a vapores de mercurio cuando la exposición es continua y a largo plazo (494). Los niveles en sangre suben y bajan con rapidez durante y después de una exposición a corto plazo (84). Después de una exposición prolongada y constante a mercurio se obtienen correlaciones entre la concentración de mercurio en el aire, la concentración de mercurio sanguínea y la concentración de mercurio urinaria (93) (433).

En una exposición prolongada a niveles de mercurio en aire de 50 g/m^3 se considera que se alcanzan unos niveles de mercurio de aproximadamente $35 \text{ } \mu\text{g/L}$ en sangre y de 100 a $150 \text{ } \mu\text{g/L}$ en orina (381). Niveles de mercurio en sangre entera superiores a $35 \text{ } \mu\text{g/L}$ deben considerarse tóxicos (259). La relación entre la exposición y los niveles en sangre y orina determinada por Lindstedt et al, en 1979, pero con una determinación de la exposición individual y no estática, fue similar en el caso de la relación respecto a la sangre e inferior en el caso de la orina, para la que se obtuvo una relación de 1 a 2 en vez de la relación de 2 a 3 indicada por la OMS (285). Roels et al, en 1987, utilizando una monitorización de la exposición al mercurio individual durante al menos un año, obtienen una buena correlación entre la dosis de exposición y los niveles en sangre y orina. Así, una concentración en orina de $50 \text{ } \mu\text{g/g}$ creatinina se observa después de una exposición de $40 \text{ } \mu\text{g/m}^3$ que correspondería con $17 \text{ } \mu\text{g/L}$ en sangre (433). La relación entre el mercurio urinario y el sanguíneo varía de unos estudios a otros y no se conoce bien si la relación es constante a diferentes niveles de exposición (381). No existe una correlación bien definida entre la concentración de mercurio en sangre y orina y la concentración del mismo en los distintos órganos (36).

La relación entre la concentración atmosférica en $\mu\text{g}/\text{m}^3$ y la concentración urinaria en $\mu\text{g}/\text{L}$ es aproximadamente 1 (270). Basados en 14.339 mediciones de mercurio atmosférico y de 8.042 determinaciones de mercurio urinario, efectuadas en trabajadores de fábricas de producción de cloro, Mattiussi et al, en 1982 (316) estimaron que una exposición media de $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ corresponde a una concentración urinaria media de $65 \mu\text{g}/\text{L}$ ($51\text{-}78 \mu\text{g}/\text{L}$). Bajo duraderas y constantes condiciones de exposición, Roels et al, en 1987 (433), encuentran una relación 1:1,22 entre la concentración de mercurio atmosférico ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) y la de mercurio urinario ($\mu\text{g}/\text{g CR}$). La diferencia ente la estimación de la OMS en 1976 de una relación mercurio atmosférico y mercurio en orina de 1:3 y las indicadas anteriormente de aproximadamente 1:1, puede deberse en parte a la distinta técnica de muestreo para evaluar la exposición atmosférica (381).

Es bien conocida la variabilidad interindividual en la excreción de mercurio en orina, incluso en individuos sin exposición laboral (549). La variabilidad en las muestras de orina individuales son, como era de esperar, superiores a las de las muestras de 24 horas (545) (549). Sin embargo, este efecto se puede minimizar utilizando la primera orina de la mañana, corregida la por la densidad o la creatinina (34). Piotrowski et al, (403) encuentran un coeficiente de variación de un 18% en las primeras orinas de la mañana de 7 individuos, corregidas con la densidad, después de que la exposición a mercurio había cesado. Barregard et al, en 1992 también encuentran una variabilidad del 18% entre muestras de la primera orina de la mañana corregidas con creatinina (34). Cuando se utiliza la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina el valor de la variación intraindividual es del 15 al 29 % (36).

La variación natural intraindividuos del mercurio sanguíneo es de aproximadamente el 10 % si la exposición es estable. Por lo tanto, la concentración urinaria fluctúa alrededor de un valor medio y los valores de dos días consecutivos pueden llegar a variar entre sí un 50%. Por razones estadísticas, cuando se trata de observar la exposición de un grupo de personas, la media no se ve altamente afectada por esta variación. Sin embargo, cuando se está monitorizando la exposición individual, esta variación es un serio problema (36). Esta mayor variabilidad en el mercurio urinario que en el sanguíneo induce a algunos autores a

indicar a la sangre como espécimen de elección para determinar la exposición a vapor de mercurio (177).

En Suecia en 1993, como en la mayor parte de los países, no había regulaciones gubernamentales sobre los límites de mercurio en muestras biológicas (446). Sin embargo, las plantas cloroalásticas, tenían sus propios programas de control que incluyen la determinación de mercurio en muestras de orina matinales al menos dos veces al año y la determinación de mercurio en sangre una vez al año (446). Si se sospecha que los trabajadores hayan sido expuestos a un pico ocasional de vapor de mercurio, se debe determinar inmediatamente la concentración sanguínea (446). Los trabajadores son relevados de su puesto de trabajo si la concentración urinaria sobrepasa los 60 µg/g creatinina (34 nmol/mmol CR) o la concentración sanguínea supera los 150 nmol/l. (446). Para Lauwerys, en 1994, la concentración de alarma que exige la revisión de las medidas de prevención es de más de 50 µg/L, considerándose excesiva una concentración de 100 µg/L, que requiere la separación del trabajador de su puesto de trabajo (270).

Las recomendaciones (“guidelines”) australianas para el mantenimiento de la salud de los trabajadores expuestos a mercurio inorgánico especifican un análisis cada 90 días. Si el nivel de mercurio inorgánico es superior o igual a 50 µg/g creatinina (28,5 nmol/mmol creatinina) se repite el análisis, se pasa un examen médico con énfasis en lo neurológico, gastrointestinal, renal y sistema dermatológico. Si el nivel de mercurio inorgánico es superior a 100 µg/g creatinina (57 nmol/mmol creatinina) o si aparecen signos de toxicidad, el trabajador es retirado de su puesto de trabajo, realizándosele exámenes cada 30 días (68).

En la Directiva de la OSHA CPL 2-2,6 de 1976 se indica que debe utilizarse una análisis de orina cada seis meses para los trabajadores expuestos por debajo del PEL y tres meses para los expuestos por encima del PEL, para la monitorización biológica y cita una concentración de 200 µg/L por encima de la cual el análisis debería repetirse semanalmente durante un mes. Si en ese mes la concentración no disminuye, debería realizarse un examen médico.

En las recomendaciones o “Guidelines” de 1996 de la OSHA, para el vapor de mercurio, se indica que, aunque no ha sido todavía desarrollado un análisis de rutina para la

monitorización biológica del vapor de mercurio, el mercurio inorgánico puede ser determinado en orina antes del turno de trabajo, considerando un índice de exposición biológica (BEI) el valor de 35 µg/g creatinina. Se indica, además, que el mercurio inorgánico puede ser determinado en sangre tomada al final de una semana de trabajo, para el cual el índice de exposición biológica sería de 15 µg/L (370), idénticos valores, en sangre y orina, a los recomendados por la ACGIH (338).

La Sociedad Japonesa para la Salud Laboral decidió recomendar valores de exposición laboral basados en la monitorización biológica (OEL-B) en vez de los basados en la concentración medioambiental máxima (OEL-M). También recomienda el valor de 35 µg/g CR como límite de exposición laboral basado en la monitorización biológica (OEL-B), al tener en cuenta la relación efecto dosis dependiente entre la concentración de mercurio en orina y el incremento de N-acetil-B-glucosaminidasa (NAG) urinario, sin indicar un momento determinado para la toma de muestra de orina, al no considerarlo un factor crítico (377).

El INSHT marca un VLB para el mercurio elemental y sus compuestos inorgánicos en orina de 35 µg/g CR (219), mientras que la Comisión para la Monitorización Biológica Humana de la Agencia Federal de Medioambiente de Alemania, indica un HBM I de 5 µg/g CR y un HBM II de 20 µg/g CR (145).

La medición de las distintas formas de mercurio en orina: total, iónico libre y mercurio metálico; basada en la hipótesis de que cuando no se sobrepase la capacidad del organismo de oxidar el mercurio y almacenarlo en lugares no críticos, en la práctica no es necesaria, ya que si el mercurio se mantiene por debajo de 50 µg/g de creatinina, el riesgo de que aparezcan manifestaciones preclínicas de hidrargirismo es mínimo (435). La eliminación urinaria de 40 mg/24 horas o 20 mg/g de creatinina indican la exposición con riesgo de toxicidad (259).

Las tasas de eliminación urinaria dependen de la función renal y suelen ser inferiores a 10 µg/L (50 nmol/L) (581). El valor normal es una concentración de mercurio menor de 4 µg/L (383) o 5 µg/L (270). La concentración de mercurio en orina de individuos en Suecia no expuestos con un moderado consumo moderado de pescado es de 2 a 3 µg/g de creatinina

(36). La Comisión para la Monitorización Biológica Humana de la Agencia Federal de Medioambiente de Alemania, indica un valor de referencia de 1 µg/g CR para adultos y 1,4 µg/L para niños, todos ellos con un consumo de pescado inferior o igual a 3 veces por semana (145).

Según los estudios cinéticos de Sallsten et al, en trabajadores expuestos, una reducción a la mitad del mercurio en sangre se produce por término medio a los 9 días y una reducción al 25% requiere 38 días, una cifra elevada en comparación con los 9 días después de una exposición a corto plazo (ver figura III.7) (446). Debe ser tomada en cuenta, para el caso de mercurio en sangre, la posible influencia del consumo de pescado (446).

La diferencia en la cinética de eliminación entre exposiciones breves y duraderas se observa también en el caso de mercurio urinario (446). Una reducción de la concentración de mercurio urinario al 25% tardará seis meses en producirse en exposiciones duraderas y 3 ó 4 meses en el caso de breves exposiciones (446).

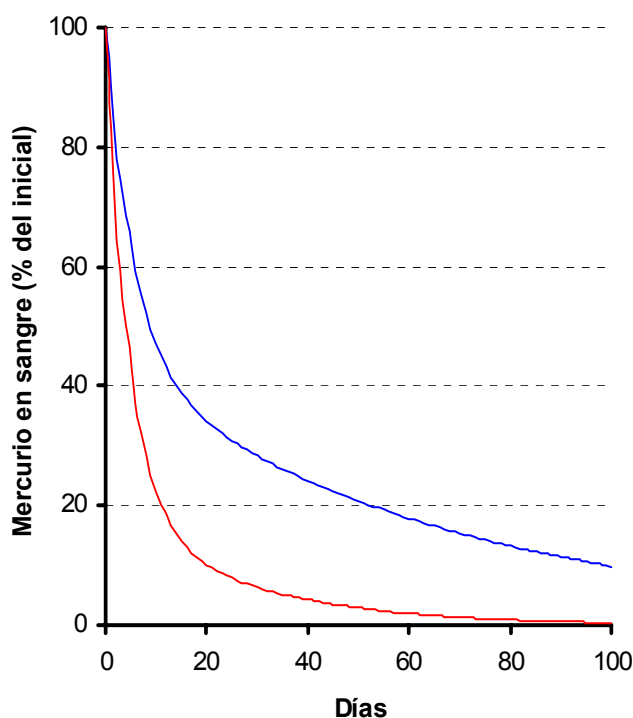


Figura III.7.- Cinética de eliminación de mercurio en sangre después de una exposición prolongada (línea azul) y después de una breve exposición (línea roja). Tomada de Sallsten et al, *British Journal of Industrial Medicine* 50:814-821 (1993).

La relativamente alta variación interindividual en la concentración de mercurio urinario obliga a realizar varias determinaciones a un trabajador para decidir su vuelta o su separación de su puesto de trabajo (36) (446).

La eliminación urinaria está muy aumentada después de la administración de quelantes, que incluyen grupos sulfhidrilos como la penicilamina, la N-acetil-D-penicilamina, el ácido dimecaptosuccínico (DMSA) y el sulfonato de dimecaptopropano (DMPS) (581). Cuando un valor de excreción en orina de 24 horas es bajo, puede resultar útil repetir la determinación después de una dosis única oral de 2 g de succímero con el fin de documentar una carga renal elevada de mercurio en trabajadores expuestos al mercurio retirados; un aumento de más de 20 µg en una muestra de orina de 24 horas sugiere la existencia de una exposición anterior (215). Es suficiente la recogida de la orina durante 6 horas después de la administración de DMPS, por correlacionar perfectamente ($R=0,99$), siendo más fácil su recogida y evitando el riesgo de una incompleta recolección (331). Según Gerhard et al, en 1998, la concentración de mercurio en orina, 45 minutos después de la administración intravenosa de DMPS, es el mejor indicador de la carga de mercurio corporal (168).

c) Valoración del mercurio en el cabello

La concentración de mercurio en pelo indica la carga corporal del tóxico (402). Al igual que en el caso del plomo, su interés es retroactivo (270), una vez que el mercurio se incorpora al pelo, esa cantidad de mercurio permanece inalterable, permitiendo, de esta manera, un estudio longitudinal del mercurio en el pelo permite la recopilación de los distintos niveles de mercurio sanguíneo que se han mantenido (383).

El pelo es útil para la determinación de una posible exposición a metilmercurio en la dieta (383), como dosímetro de la exposición crónica a mercurio orgánico (215) y, en general, para

todos aquellos casos de exposición oral sin contaminación ambiental (191). En comunidades donde el consumo diario de pescado aporta 200 µg de mercurio, la concentración de mercurio en sangre es de aproximadamente 200 µg/L y unas 250 veces superior (50 µg/g) en pelo (383). La concentración media de referencia es de 2 µg/g (383).

La toma de muestra puede realizarse de un único cabello, que requiere la determinación de la fase de crecimiento (observando la raíz al microscopio) del mismo y un método muy sensible, o de un mechón. La mayor parte de los métodos necesitan, al menos 1 mg y, normalmente, 10 mg de muestra. La variación del contenido de mercurio, dentro de un mismo individuo, debida a la toma de muestra, se encuentra dentro de un 10% (383).

Elevadas concentraciones de mercurio en el pelo pueden ser debidas a contaminación externa (381). Los niveles de mercurio en pelo pueden estar incrementados por la adsorción del mercurio metálico en los cabellos (14) y por el establecimiento de enlaces químicos con grupos funcionales de la composición del cabello, que implica una ineffectividad de las técnicas de lavado de los mismos (191). La fase de crecimiento del cabello, el tipo de pelo y los procedimientos de lavado del mismo, afectan a la concentración de mercurio en pelo (14). Los niveles normales de mercurio atmosférico no tienen ningún efecto sobre la concentración de mercurio en el pelo (14), aunque incluso bajos niveles de contaminación de vapor de mercurio provocan una considerable contaminación del pelo (191) (568). Cuando se observa una concentración elevada en pelo y existe exposición a vapor de mercurio, se desconoce cuánta cantidad se debe a contaminación externa (381). Elinder et al, en 1988 dan como conclusión que el pelo no es un adecuado indicador para la monitorización de la exposición al mercurio inorgánico (131).

Se conoce la relación entre sangre y pelo para diferentes exposiciones a metilmercurio, lo que es la base de la utilización de este espécimen como indicador de ese compuesto, pero no se conoce la relación entre mercurio inorgánico y pelo (381). La relación pelo/sangre permanece constante en exposiciones crónicas (ingesta de pescado) (497). En el momento de la formación, la concentración total de mercurio en cabello es proporcional a la concentración en sangre entera, con un cociente aproximado de 250 (270), aunque con una apreciable variabilidad individual (383). Asumiendo un consumo diario medio de 20 g de pescado no predatorio, se estima un consumo diario medio de metilmercurio de 4 µg, lo que

elevaría el nivel de mercurio en sangre en 4 µg/L y los niveles de mercurio en pelo en 1 µg/g (383). Suzuki et al, en 1993, encuentran correlación entre las concentraciones encontradas en cerebro, cerebelo, corazón, bazo, hígado y riñón y la concentración de mercurio en pelo (507).

La población general no tiene un riesgo importante por el consumo de metilmercurio (383). Ciertos grupos, de alto consumo de pescado pueden llegar a alcanzar una concentración sanguínea de 200 µg/L, lo que se encuentra asociado a un riesgo del 5% de daño neurológico en adultos (383). Sin embargo, a pesar de las elevadas concentraciones en ciertos grupos con elevado consumo de pescado, no se ha observado toxicidad manifiesta en poblaciones alejadas de la contaminación industrial (182). Deberían ser monitorizados los niveles de mercurio en pelo en mujeres en edad de procrear en poblaciones con alto consumo en pescado (100 g/día). (383).

d) Indicadores Biológicos indirectos

Parece existir una relación entre la evolución de las tasas de mercurio urinario en el curso del tiempo y las primeras manifestaciones subclínicas (temblor, modificaciones electromiográficas y efectos psicomotores) (270).

En la exposición crónica a mercurio inorgánico, las concentraciones elevadas en la orina se correlacionan con síntomas neuropsiquiátricos y con concentraciones elevadas en orina de N-acetil-B-glucosaminidasa (NAG) (enzimas de las células tubulares renales) (105) y disminución de la conducción nerviosa (314). El daño renal puede ser detectado por el incremento de la actividad de enzimas en la orina como la beta-hexosaminidasa, procedentes de los lisosomas de las células de los túbulos proximales (260) (497). Se observa un aumento de la excreción de NAG, sin aparición de albuminuria, en trabajadores expuestos al mercurio con niveles de mercurio urinario superiores a 35 µg/g creatinina (20 nmol/mol creatinina) (30). En aquellos trabajadores con un nivel de exposición por debajo de 35 µg/g creatinina, se puede observar un incremento transitorio de los niveles de NAG, aunque no supone un indicio de una temprana disfunción renal (52).

Como pruebas inespecíficas pueden tener interés la determinación de la lacticodeshidrogenasa (LDH) urinaria, que con la exposición al mercurio puede estar aumentada mientras es normal en suero y al aminoaciduria (163). Es controvertida la importancia detectora de la β -2-microglobulina urinaria (cuando las cifras de mercurio urinario y sanguíneo corresponden a concentraciones límite) (163). En definitiva, se trata de pruebas destinadas a poner de manifiesto una lesión tubular renal incipiente (163).

6.- MÉTODO ANALÍTICO

La exactitud, precisión y automatización de un método para la determinación de mercurio en muestras biológicas y medioambientales es complejo, no sólo por la existencia de diferentes estados de oxidación del mercurio (0,I,II), sino también por la metilación, biótica o no, así como la volatilidad de varias de las formas del mercurio (106).

El método original era el de la “ditizona” que se utilizó ampliamente hasta la introducción de la absorción atómica en los finales de los años 60 (383). Básicamente, el método de la ditizona consistía en la formación de un complejo coloreado con la ditizona y el mercurio que, previamente debía ser convertido a Hg^{2+} por la acción de ácidos fuertes, neutralización del exceso de oxidante con hidroxilamina y extracción del complejo coloreado con disolventes no polares para medir su intensidad con un espectrofotómetro. El límite de detección era de 1-10 μg de mercurio, por lo que requería grandes cantidades de muestra (383). Los métodos actuales permiten la cuantificación de mercurio en muestras de sangre de 1 a 5 ml incluso en el caso de personas no expuestas (383).

Aikoh y Shibahara en 1997 describen un método de análisis de mercurio en sangre y orina utilizando espectrofotometría visible ($\lambda=556 \text{ nm}$) por la formación de un complejo coloreado de molibdeno y mercurio en el que un flujo nitrógeno con SnCl_2 se hace pasar a través de la muestra que previamente ha sido tratada con ácido sulfúrico y permanganato potásico para reducir el mercurio y sea transportarlo a otra cubeta con la solución de un complejo de Molibdeno, con un límite de detección de 0,05 mg/L (13).

Para la determinación de mercurio se han utilizado técnicas analíticas como la espectroscopía de absorción atómica y atomización electrotérmica (ETAAS) (38) (139), el plasma acoplado inductivamente combinada con espectrometría de masas (ICP-MS) (237) (570), el plasma acoplado inductivamente combinado con el vapor frío (CV-ICP) (20) (66), la resonancia magnética nuclear (NMR) (91), cromatografía de gases combinada con espectrometría de masas (GC-MS) (9) y potenciometría de redisolución (PSA) (528). La

activación de neutrones es considerada como la técnica más exacta y sensible por lo normalmente es utilizada como método de referencia (381). La técnica de elección para la determinación de mercurio total en muestras biológicas y medioambientales es la CVAAS, que tiene unos límites de detección de 0,5-4,0 ng/g (383) siendo la que preferiblemente se utiliza (38) (67) (189) (254) (354) (510) (512) (538), por la gran sensibilidad que tiene, la ausencia de interferencias espectrales y el relativamente bajo coste de trabajo (559). Para mejorar la sensibilidad de esta técnica se ha utilizado una etapa previa de preconcentración por amalgama con el oro (41) (280) o por la utilización de un detector de fluorescencia (CVAFS) (104) (451) (538) o la combinación de ambos (573). La cromatografía de gases se puede utilizar para la determinación directa de metilmercurio (383).

En la técnica CVAAS los especímenes deben ser digeridos previamente, la determinación de mercurio total por CVAAS en muestras no digeridas es inviable por las interferencias producidas por la presencia de materia orgánica (510). Se realiza una digestión ácida en caliente o mineralización, en la que se utilizan mezclas de ácidos y oxidante o incluso un oxidante sólo, como el permanganato potásico (482), en el caso de orina (ver Tabla III.5). Los métodos desarrollados en los años setenta basados en una digestión previa seguida de una reducción del mercurio con borohidruro sódico o cloruro de estaño (II) siguen siendo de uso generalizado (354).

La digestión con sólo sulfúrico se demuestra insuficiente para oxidar el metilmercurio (197). La adición de permanganato potásico completa la oxidación del metilmercurio, pero puede provocar depósitos en el sistema que interfieren en la medida (197). Tampoco parece completa la digestión al utilizar sólo permanganato potásico (354) (482). Las mezclas sulfúrico/persulfato (197) (354) y ácidos nítrico y perclórico son consideradas efectivas para la completa digestión de organomercuriales (354), aunque la primera parece no formar sustancias que interfieran con el agente reductor de borohidruro o cloruro de estaño (II) y evita los riesgos que implica el calentamiento del ácido perclórico (354). Cuando el ácido perclórico concentrado es calentado en presencia de materia orgánica (524) o sustancias fácilmente oxidables puede producirse una explosión por lo que su utilización en la digestión de las muestras conlleva un cierto riesgo (149). Además, el ácido perclórico existente en el mercado contiene trazas de mercurio (451). El uso de permanganato potásico provoca la formación de óxido de manganeso (IV) que forma una película en los tubos de

muestra y en los componentes del equipo en contacto con la misma, que puede interferir en la determinación de mercurio (188) (197).

Tahán et al, en 1993 no encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los métodos de digestión por convección y por microondas de muestras de sangre y orina (510).

Tabla III.5.- Reactivos utilizados en la digestión de los especímenes en CVAAS

<i>Autor</i>	<i>Espécimen</i>	<i>Reactivos de Digestión</i>
Skare 1972 (482)	Sangre	HNO ₃ + HClO ₄ (1:5) 70°-75°C
	Orina	MnO ₄ K
Akesson 1991 (16)	Sangre	HNO ₃ + HClO ₄ (1:5) 65°C
	Orina	MnO ₄ K + SO ₄ H ₂ temp amb
Welz 1992 (560)	Orina y agua	KBrO ₃ + KBr + HCl
Tahan 1993 (510)	Sangre y orina	HNO ₃ + HClO ₄ (1:1) 130°C o μondas
	Orina y agua	K MnO ₄ + H ₂ SO ₄
Hanna 1993 (197)	Orina y agua "on line"	K ₂ S ₈ O ₇ + H ₂ SO ₄
	Muestras biológicas y medio ambientales	NO ₃ H + MnO ₄ K 95°C
Winfield 1994 (573)	Muestras biológicas	HNO ₃ + H ₂ SO ₄
Nixon 1996 (354)	Sangre y orina	HNO ₃ + H ₂ SO ₄ (8:1)+ K ₂ S ₂ O ₈ (95°C)
Sandborgh-Englund 1998 (451)	Sangre	HNO ₃ + H ₂ SO ₄ + KBr + KBrO ₃ (65-85°C)

En la mineralización se deberá evitar la volatilización del mercurio (67). La principal preocupación es evitar la pérdida de mercurio por el aumento de temperatura utilizado durante la digestión (189). Para evitar la pérdida de mercurio volátil se utilizan sustancias estabilizantes, generalmente dicromato potásico (149) (189) (202) o permanganato potásico (202) (ver Tabla III.6), que actúan oxidando el mercurio a Hg(II) (20).

Para liberar el mercurio gaseoso que será arrastrado por el gas argón a la celda de lectura por absorción atómica se utiliza Cloruro de estaño (II) o Borohidruro sódico (ver Tabla III.6).

Tabla III.6.- Características instrumentales de diferentes métodos de análisis de mercurio que utilizan la técnica CVAAS

<i>Autor</i>	<i>Reductor</i>	<i>Carrier</i>	<i>Estabilizante</i>	<i>Equipo</i>
--------------	-----------------	----------------	----------------------	---------------

Hawley 1975 (202)	1g SnCl ₂ + 1ml HCl (conc)+csp 100 ml	-----	0,002 % (p/v) KMnO ₄ +1%HNO ₃	Propio
Margel 1984 (311)	NaBH ₄ 10% (p/v) en NaOH 1M		sin	
Ahmed 1987 (12)	SnCl ₂ 10% (p/v) +20% (p/v) SO ₄ H ₂		sin	PE 400
Welz 1992 (560)	NaBH ₄ 0,02% (p/v)+ 0,02% NaOH (p/v)	0,3% HCl (p/v) o H ₂ O	0,005% (p/v) KCr ₂ O ₇ en ac. nítrico 0,5% (p/v)	PE2100+ FIAS200
Tahán 1993 (510)	NaBH ₄ 3% (p/v) + 1% NaOH (p/v)	gas nitrógeno	sin	PE460+M HS-10
Hanna 1993 (197)	SnCl ₂ 10% (p/v) en HCl 10% (p/v)		sin	PE3100+ FIAS200
Anderson 1994 (CV-ICP) (20)	NaBH ₄ 6% (p/v) en 5% NaOH (p/v)	10M HCl	Cr (VI)	PE P-ICP AS-50
Nixon 1996 (354)	SnCl ₂ 5% (p/v) en HCl 5% (p/v)	HCl 3% (p/v)	sin	PE3100+ FIAS200

La pérdida de Hg, bajas recuperaciones, observado en el método parece ser debido a la pérdida de muestra al depositarse en las paredes en la primera fase de digestión por la formación de un poco de espuma (20).

Uno de los problemas de la determinación de mercurio en sangre es la formación de espuma, principalmente cuando se utiliza borohidruro como agente reductor (189). La adición de tritón X-100 a las muestras mejora la fluidez de las muestras y disminuye la formación de espuma (189).

La no reactividad de los compuestos de alquilvercurio con las sales de estaño (II) ha sido utilizada por algunos autores para la determinación diferencial del mercurio orgánico e inorgánico (41) (306) (354). Sin embargo, la digestión completa y perfecta de la sangre es esencial en los actuales sistemas de inyección de flujo para evitar la formación de espuma que bloquearía el flujo de gas portador (297). Además, esta no reactividad no es completamente específica degradándose aproximadamente un 2% de metilmercurio (41) y la totalidad del arilvercurio (354).

Agemian en 1978 indica la interferencia espectral positiva provocada por la formación de cloro a partir de un exceso de cloruro y el permanganato o el persulfato (6). La concentración de cloruro hasta del 2% (NaCl) en la muestra no tuvo ningún efecto en la señal obtenida (197), quizás debido al poco tiempo de contacto entra la muestra y el agente oxidante en el sistema "on line" (197).

Una concentración de hasta 1 mg/L de sulfuro en la muestra no provoca descenso mayor del 10% (197).

Analizando muestras de 50 ppb de Hg a las que se le añaden cantidades de Na, Ca, K, Mg, Cr, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Al y Cd a una concentración de 4000 µg/g (0,4%), no se observa ningún tipo de interferencia química (20). Concentraciones de cobre superiores a 1000 µg/g provocan que con el contacto con el borohidruro, las paredes de cristal se recubran del mismo, lo que se puede evitar lavando con una solución de Cr(VI) en medio nítrico (20)

La elevada temperatura que se produce en el sistema "on line" provoca la formación de vapor de agua que se condensa en las ventanas de la célula de cuarzo provocando un descenso de la señal que sólo se puede corregir desmontando la célula y secándola (197), efecto que otros autores también observan (103) (560).

La interposición de un filtro de PTFE de 1,5 cm de diámetro y 0,5 µm de poro incrementa hasta 30 minutos el tiempo en el que tarda en aparecer el empañamiento de las ventanas de la célula de cuarzo, sin embargo, se prefiere la interposición de un tubo en U como trampa del vapor de agua, cuya utilización parece evitar de forma definitiva este fenómeno (197).

7.- TOMA DE MUESTRAS

Aunque la toma de muestras para la determinación de mercurio no requiere unas medidas específicas en la toma de muestra, al ser un elemento traza y, por lo tanto, encontrarse en bajas concentraciones, la toma de muestras requiere unas medidas especiales.

7.1.- ORINA

Es importante evitar la contaminación de las muestras de orina para lo que se recomienda la utilización de procedimientos de limpieza y el uso de envases de polietileno libres de metales (381). En el caso de trabajadores expuestos a vapores de mercurio se debe evitar cualquier tipo de contaminación en la toma de muestra: después de una ducha o, por lo menos, lavarse las manos; recipiente limpio (270)

La orina debe ser recogida en recipientes de cristal o plástico que hayan sido previamente lavados con ácido o aquellos que se pruebe estar libres de mercurio. En el caso de exposición ocupacional, la muestra debe ser recogida en la casa del trabajador después de que éste se haya lavado las manos (36).

La pérdida de mercurio por evaporación o adsorción a las paredes del envase son mínimas para unos pocos días si la orina se refrigera o dos meses si la muestra se congela (36).

El crecimiento bacteriano, incluso en orina de personas sanas, es rápido a temperatura ambiente (381). Debe procederse con suma precaución en el almacenamiento de la orina, puesto que el crecimiento bacteriano es capaz de modificar la concentración de las numerosas formas de mercurio que pueden estar presentes (381). Es necesario añadir algún conservante a los recipientes de recolección de orina para evitar el crecimiento bacteriano que provocaría una digestión menos eficiente (482) y porque podría dar lugar a compuestos

volátiles de mercurio (482), puesto que ciertos microorganismos pueden volatilizar el mercurio (270). A tal efecto, basta con añadir 1 g de ácido sulfámico ($\text{NH}_2\text{-SO}_4\text{H}$) y 0,5 ml del detergente Tritón X-100, a los botes de polietileno de 500 ml. De esta manera, las muestras de orina pueden ser estables al menos un mes a temperatura ambiente (482). La adición de ácido clorhídrico o sustancias bactericidas y la congelación son los mejores métodos para impedir la alteración de las muestras de orina (381). Cornelis et al, indican también la utilización de 1 ml 6M de ácido nítrico como conservante (101). Si las muestras se conservan a -20°C el crecimiento bacteriano se reduce considerablemente (381). Sallsten et al, en 1993, no observan pérdida de mercurio en orinas refrigeradas durante varios meses. La adición de un antibacteriano es útil si la orina debe ser almacenada durante un tiempo prolongado (306).

La importancia de agitar adecuadamente la muestra de orina antes de tomar una alícuota se observa en el hecho de que en el precipitado de orinas ácidas se encuentra entre un 4 a un 45% de mercurio, y entre un 2 y un 10% para orinas básicas (482). En medio ácido, la orina tiende a formar aglomeraciones del precipitado que desaparecen en medio alcalino aunque, también, aumenta la cantidad de precipitado inorgánico (482). En medio alcalino las proteínas se hayan más hidrolizadas y son más solubles por lo que la pérdida de mercurio en el precipitado es menor que en orinas ácidas (482).

7.2- SANGRE

Las toma de muestra de sangre debe realizarse en sangre venosa, evitando el uso de conservantes que contengan mercurio (383), este método es especialmente importante si se deben medir los niveles en plasma y eritrocitos (381). Los más convenientes son los tubos de extracción a vacío heparinizados (383). Cada lote conviene que sea analizado previamente para comprobar la ausencia de mercurio (383). Se debe almacenar a 4°C antes del análisis (381). Dura hasta dos días antes de que se produzca hemodiálisis significativa (92).

Las muestras de sangre pueden ser almacenadas durante unas pocas semanas a 4°C, para periodos más largos se deben congelar a -20°C (101). Sallsten et al, en 1993, no encuentran ninguna pérdida de mercurio cuando guardan las muestras de sangre a temperatura ambiente o refrigeradas durante varios meses (446).

Yoshida, en 1985, indica una concentración de mercurio metálico en sangre menor del 0,2% o no detectable (580), por lo que las pérdidas de mercurio durante la manipulación de la muestra son insignificantes (446).

7.3.- PELO

La muestra puede ser un único cabello o un mechón de pelo. En el caso de un único cabello se requiere un método analítico muy sensible y la determinación de la fase de crecimiento del mismo (383). La toma de muestra puede realizarse de un único cabello, que requiere la determinación de la fase de crecimiento (observando la raíz al microscopio) del mismo y un método muy sensible, o de un mechón. La mayor parte de los métodos necesitan, al menos 1 mg, y normalmente, 10 mg de muestra. La variación del contenido de mercurio, dentro de un mismo individuo, debida a la toma de muestra, se encuentra dentro de un 10% (383).

IV.- CADMIO

El cadmio, de número atómico 48 y masa atómica 112,4, es un metal que pertenece, junto con el zinc y el mercurio, al grupo IIb de la Tabla periódica. Tiene una presión de vapor relativamente alta. El vapor se oxida rápidamente en el aire para formar óxido de cadmio (378).

El Cd está ampliamente distribuido en la corteza terrestre con una concentración media de aproximadamente 0,1 mg/kg (378). La actividad volcánica es la mayor fuente natural de cadmio a la atmósfera (378), los valores obtenidos en la columna de humo del Etna en Sicilia son de alrededor 90 ng/m³, cuando los valores normales se encuentran en torno a 0,03 ng/m³ (378). No se encuentra en estado puro y sus minerales casi siempre se hallan asociados a los del zinc; por ello el nombre de cadmio deriva de la palabra griega con la que se conocía el óxido de zinc. Está presente en varios tipos de rocas, lodos de sedimentación, carbones y petróleos (296). No forma compuestos organometálicos de importancia toxicológica (68).

La solubilidad de los compuestos de cadmio juega un gran papel en su toxicocinética; los carbonatos, sulfuros u óxidos son casi insolubles en agua, mientras que nitratos y cloruros lo son (296)

El cadmio tiene un número limitado de aplicaciones, pero dentro de éstas, se utiliza en una gran cantidad de materiales para el consumo e industriales. El cadmio tiene cinco aplicaciones principales (378):

- Chapado protector del acero
- Como estabilizante del PVC
- Pigmentos en plásticos y cristales

- Electrodo en pilas de níquel-cadmio
- Componente de diversas aleaciones

Se emplea para formar aleaciones de muy distintas aplicaciones, entre las que destacan la anticorrosiva, metal para cojinetes, fundente para soldaduras, fundente para baños, como pigmento amarillo en pinturas. (296), en la producción de baterías recargables de níquel-cadmio (172) y como funguicidas (68).

El uso del cadmio en el chapado del acero que representaba la mitad del uso total en 1960, ha ido decreciendo por la imposición de restricciones en su utilización hasta 1985 en el que el uso en pilas de níquel-cadmio representa el 75% (378). Del resto de las aplicaciones, la utilización como estabilizante y como pigmento, son las más importantes (378).

El cadmio presente en el medioambiente es consecuencia de su emisión a la atmósfera por diferentes industrias. De la atmósfera, el polvo se deposita sobre la tierra y es arrastrado por los ríos hacia el mar. En éste se encuentra la mayor reserva del metal. En los ríos la concentración de cadmio disuelto es relativamente alta encontrándose generalmente unido a materia particulada. En agua de mar la concentración varía con la profundidad. La concentración media en suelos de países europeos varía entre 0,06 y 0,5 mg/kg. En áreas contaminadas puede ser incluso 1000 veces superior (296).

En el aire se observan concentraciones de cadmio de 1 a 5 ng/m³ en áreas rurales, 5 a 15 ng/m³ en las zonas urbanas y de 15 a 50 ng/m³ en zonas industriales (378).

El Cd es un elemento tóxico no esencial para los sistemas biológicos, que se encuentra presente como contaminante en los alimentos, agua o aire. Los efectos en la población general expuesta a bajas concentraciones han ido aumentando por el incremento en la producción anual de este elemento y su presencia en productos tales como fertilizantes, residuos de baterías y pilas eléctricas alcalinas y en el humo del tabaco (296).

El marisco, los crustáceos y las setas son bioacumuladores de cadmio. El consumo elevado de estos productos aumentan la exposición al cadmio (378). Aunque las

concentraciones en los cereales y los vegetales, principalmente las hojas (214), son bajas, su mayor proporción en la dieta hace que sean las principales fuentes de exposición alimentaria de cadmio (455), especialmente aquellos que proceden de suelos contaminados (214).

No hay evidencia clara de que la presencia del cadmio en los organismos vivos sea consecuencia del transporte a través de las cadenas alimentarias, aunque se ha confirmado que la entrada de iones cadmio es seguida de acumulación en los individuos (296). En los marinos la acumulación aumenta a medida que la especie es más sencilla (algas>moluscos>crustáceos>pescados).

La planta del tabaco acumula concentraciones relativamente elevadas de cadmio en sus hojas de forma natural, por lo que el tabaco representa una importante fuente de exposición (378). Se considera que cada cigarrillo contiene 1-2 μg de cadmio (159) del que se inhala un 10% de su contenido (132) pudiendo provocar incrementos significativos en la concentración de cadmio en el riñón (279).

Las principales formas de exposición para el ser humano resultan ser algunos puestos de trabajo (fundidores, soldadores, industria del plástico, pigmentos, pilas etc) y el tabaco. (214). Para no fumadores ni trabajadores expuestos, la ruta más importante la constituyen los alimentos, cuyas concentraciones son superiores a las del aire y el agua (296).

La *ingesta diaria* de cadmio depende de los alimentos constituyentes de la dieta; la media diaria en EE.UU y Europa se estima entre 10 y 20 μg , mientras que en Japón es más alta, entre 40 y 50 $\mu\text{g}/\text{día}$, probablemente por el alto consumo de arroz, rico en cadmio (296). Satarug et al, en 2000, estiman un consumo de 30 μg de cadmio al día (455).

Considerando una concentración de cadmio en aire de 10 ng/m^3 para tanto ambiente interior como exterior y una inhalación de 15 m^3 diaria para un adulto, el *consumo diario de cadmio vía inhalación* es de 0,15 μg (378) del que un 25% (0,04 μg) (159) será absorbido. Fumar un paquete de 20 cigarrillos de tabaco al día suponen una inhalación

de 2 a 4 μg de cadmio de la que se absorbe un 25-50%, por lo que de 1 a 2 μg de cadmio al día podrían pasar a la circulación general (378). Los fumadores tienen una cantidad total en el cuerpo humano aproximadamente el doble de la de los no fumadores (266).

Los trabajadores expuestos al cadmio donde la concentración de cadmio en el aire se encuentra en torno a 10-50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, con una inhalación de 10 m^3 de aire durante la jornada diaria de trabajo, conlleva a una inhalación de 100 a 500 μg . Con una tasa de absorción del 25%, la cantidad absorbida será de 25 a 125 μg (378).

En la *toma de muestras* deben evitarse los recipientes de cristal o plásticos con cadmio como ablandador o colorante y la utilización de guantes con talco (101). Se pueden utilizar agujas de acero inoxidable para la extracción de las muestras de sangre (101).

Las técnicas más utilizadas para el análisis cuantitativo de cadmio son la espectroscopía de absorción atómica, voltamperometría de redisolución y la activación de neutrones (378), siendo la espectroscopía de absorción atómica la más apropiada para la monitorización médica (369).

La activación neutrónica es un método largo y laborioso que requiere la liofilización, irradiación y mineralización antes de la cuantificación (274) con un límite de detección inferior a 1,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (502). La activación de neutrones no es un método ideal para la determinación de cadmio en sangre y orina por tener un límite de detección muy cercano a los valores normales y por las posibilidades de explosión de la muestra líquida en el reactor al formarse gases en la misma (378). La activación de neutrones se ha utilizado para la determinación “in vivo” de cadmio en riñón e hígado. Sin embargo, los límites de detección tan altos, 15 mg/kg y 1,5 mg/kg respectivamente, no permite la determinación de cadmio en personas no expuestas al mismo (Ellis et al, 1981).

La voltamperometría de redisolución anódica es una técnica muy sensible, rápida y con una buena precisión cuando se controlan parámetros como la agitación, altura del electrodo, etc (185), que requiere de una digestión húmeda de la muestra (170), aunque se

han desarrollado métodos que sustituyen la digestión por un pretratamiento con agentes formadores de complejos con el cadmio (87).

Dentro de unos años la ICP-MS se convertirá en un método de rutina para la determinación del cadmio sanguíneo y urinario (185) aunque todavía presenta problemas de interferencias (582) que pueden ser eliminadas con la utilización de células de reacción dinámica (DRC) (185). White, en 1999, indica que el cadmio sanguíneo y urinario pueden ser determinados con exactitud, menor límite de detección y mejor precisión a bajas concentraciones, con una técnica ICP-MS con introducción de muestra por inyección de flujo previa dilución de la misma 1+5 (v/v) con una disolución 0,05%EDTA, 0,03M NH₃ y 0,05% Titón X-100 para la sangre, y 1+4 (v/v) con una disolución 0,1% HNO₃ en el caso de la orina. (566).

La Espectrometría de Absorción Atómica Electrotérmica no está libre de interferencias cuando se determina cadmio en muestras biológicas por lo que se hace imprescindible la utilización de un corrector de fondo (378) que, después de los años 80, predomina la corrección de fondo por efecto Zeeman (185). Los modificadores de matriz más empleados para la determinación de cadmio son el dihidrogenofosfato de amonio en medio nítrico (107) (173), el hidrogenofosfato de amonio (566) asociado a nitrato amónico (582) o nitrato magnésico (491) y el paladio sólo o asociado a nitrato magnésico (336). Guillard, en 2001, desaconseja los métodos con calibración con patrones acuosos sin previa desproteinización o extracción, aunque se utilice el efecto Zeeman como corrección de fondo (185).

El límite de detección del cadmio en sangre y orina cuando se utiliza la Espectrometría de Absorción Atómica Electrotérmica es de 0,1 a 0,4 µg/L como se observa en la Tabla IV.1.

Tabla IV.1.- *Parámetros analíticos de diferentes métodos para el análisis de cadmio*

<i>Muestra</i>	<i>Límite de Detección (3 SD)</i>	<i>Linealidad</i>	<i>Repetibilidad (precisión intradía)</i>	<i>Referencia</i>
Sangre	1,06 nmol/L (0,12 µg/L)		11,3% con 4,7 nmol/L 6,3% con 28 nmol/L	(405) Pleban y Pearson, 1979
Orina	1,06 nmol/L		11,3% con 5,5 nmol/L	(405) Pleban y Pearson,

	(0,12 µg/L)		5,2% con 22 nmol/L	1979
Sangre	1,77 nmol/L	133 nmol/L	1,3% con 4,4 nmol/L	(501)Stoeppler y Brandt, 1980
	(0,2 µg/L)	(15 µg/L)		
Orina	1,77 nmol/L	133 nmol/L	12,6% con 23 nmol/L	(501)Stoeppler y Brandt, 1980
	(0,2 µg/L)	(15 µg/L)		
Sangre	0,8 nmol/L	222 nmol/L		(107) D'Haese et al, 1991
	(0,09 µg/L)	(25 µg/L)		
Orina	3,5 nmol/L	222 nmol/L		(107) D'Haese et al, 1991
	(0,4 µg/L)	(25 µg/L)		
Sangre y orina (adiciones estándar)	1,96 nmol/L		3%	(336) Moreira et al, 1995
	(0,22 µg/L)			
Sangre (adiciones standard)	1,14 nmol/L	250 nmol/L	3,9% con 118,2 nmol/L	(185)
	(0,13 µg/L)	(28, 1µg/L)		
Orina (adiciones standard)	1,68 nmol/L	300 nmol/L	2,5% con 55 nmol/L	(185)
	(0,19 µg/L)	(33,7 µg/L)		

Por vía oral se estima que sólo el 5% del total del cadmio ingerido es absorbido (378).

La OSHA recomienda la utilización de tubos de extracción a vacío, exentos de metales, con EDTA como anticoagulante (369).

Por existir cierto riesgo de contaminación de las muestras, especialmente las líquidas, debe evitarse el contacto de la misma con ciertos recipientes coloreados de plástico (378). El uso de puntas de pipeta coloreadas puede contaminar las muestras (449). Se consideran apropiados los recipientes de cristal, polietileno transparente y libre de cadmio, polipropileno y teflón (378). Todos los recipientes deben ser lavados con ácido nítrico diluido (378). Las muestras y patrones acuosos no deben ser almacenadas durante un corto periodo de tiempo para evitar la posible absorción de cadmio por parte de las paredes del recipiente (378).

Sin embargo, Friberg y Vahter en 1983, no observan pérdidas de cadmio en sangre hemolizada y adicionada de cadmio, conservada a temperatura ambiente durante varios meses (160). Algunas muestras, como la orina, deben acidificarse para prevenir la precipitación de sales y asegurar la permanencia del cadmio en la solución (378). El Centro de Toxicología de Québec no observa cambios en la concentración de cadmio de los especímenes de sangre y orina que envía cada dos meses a distintas zonas del mundo aunque, dichos envíos tardan hasta dos semanas en llegar a su destino y las muestras no son tratadas ni refrigeradas para su envío (369). Además, aunque el CDC recomienda la

adición a la orina, como conservante, de ácido nítrico necesario para alcanzar una concentración aproximada del 1%, el Centro de Toxicología de Québec no acidifica las muestras que remite a los participantes del programa interlaboratorios. Si la orina tiene mucho sedimento el citado centro recomienda la adición de ácido para liberar el cadmio del precipitado (369).

La absorción pulmonar de cadmio es mayor que la absorción gastrointestinal. Dependiendo de la especie química, el tamaño de partícula y la solubilidad de la misma en los fluidos biológicos, hasta un 50% del cadmio inhalado puede ser absorbido (378).

La absorción gastrointestinal del cadmio está influenciada por la edad (138), el tipo de dieta y estado nutricional (378), particularmente el estado nutricional de la vitamina C, el hierro (138) (178) (179), el calcio y el zinc (138). La velocidad de absorción de cadmio está aumentada cuando existe deficiencia de ciertos elementos con un mecanismo de transporte común (455). Las altas concentraciones de zinc en el lugar de absorción inhiben la absorción de cadmio (62). El estado nutricional del hierro parece tener especial relevancia (268) (533). Elinder et al, en 1976, indican que las mujeres tienen concentraciones de cadmio más altas en riñones, sangre y orina que los hombres (133). Jarup et al, en 1998, explican este hecho por estar favorecida la absorción de hierro en las mujeres debido a la, generalmente, menor concentración de hierro en mujeres (231). Por término medio, un 5% de la ingesta total de cadmio es absorbido en el tracto gastrointestinal, aunque la variabilidad individual puede variar este porcentaje hasta un 20% (378), cifra que se alcanza principalmente en individuos con deficiencia de hierro (266). Se ha propuesto que la MT intestinal juega un papel importante en la absorción, transporte y distribución del cadmio procedente de la dieta a los riñones (138).

El cadmio se distribuye en la sangre tanto en plasma como en los eritrocitos (296) unido en una alta proporción a la metalotioneína, que, en cierta medida, protege de su toxicidad (214). El cadmio se encuentra principalmente en las células sanguíneas, 90-95% (185), siendo la concentración en el plasma muy baja (378).

Aunque en un principio el cadmio eritrocitario se encuentra unido a la hemoglobina, a partir de la hora de una inyección subcutánea una gran proporción del cadmio

eritrocitario se une a proteínas de peso molecular mayor que la hemoglobina (357). Transcurridas entre 96 y 196 horas, el cadmio se une también a una proteína de bajo peso molecular que podría ser una metalotioneína (358). Una vez absorbido en el tracto gastrointestinal, el cadmio es transportado al hígado donde induce la síntesis de metalotioneína, que actúa como proteína protectora (284). En los tejidos, el cadmio se encuentra unido a la metalotioneína (185). Parte del complejo Cd-MT se libera a sangre para terminar alcanzando los riñones (284). El complejo metalotioneína y cadmio representa el principal mecanismo de transporte de cadmio al riñón (369).

El cadmio absorbido se almacena, principalmente, en el hígado y los riñones (214), donde se encuentra más del 50% del contenido total del cuerpo (378). Las mayores concentraciones de cadmio se encuentran en la corteza renal, pero a medida que la exposición se incrementa, la proporción de cadmio almacenado en el hígado aumenta (378).

La cinética del cadmio en sangre sigue un modelo bicompartimental con una rápida eliminación (vida media 75-130 días) seguida de una fase lenta (7 a 16 años) (232). En trabajadores expuestos, la concentración de cadmio en sangre se incrementa hasta alcanzar un máximo a los 4 meses. La velocidad de excreción renal es normalmente lenta y la vida media de eliminación en los riñones y el hígado es de decenas de años (378). Se estima que la vida media de eliminación de cadmio en el hombre está entre 10 y 30 años (296), decreciendo ligeramente con la edad (525). La concentración de cadmio en los tejidos del cuerpo humano van incrementándose con la edad (378). En personal expuesto, con la función renal alterada, la excreción de cadmio aumenta y, por lo tanto, la vida media de eliminación se acorta (378). La proteinuria aumenta la concentración de cadmio urinaria en personas expuestas (268) pero disminuye cuando cesa la exposición aunque siga existiendo proteinuria (378).

La concentración del cadmio en orina depende de la carga corporal, exposición reciente y daño renal (378) y está sujeta a variaciones intra y interindividuales (296). Se acepta que un nivel de cadmio en la orina de 10 µg/g CR corresponde a una concentración de 200 µg/g de tejido húmedo de corteza renal (524). La mayor parte del cadmio en orina parece encontrarse unido a la metalotioneína (436). El complejo cadmio-metalotioneína

transportado por la sangre es filtrado a través del glomérulo a la orina primaria produciéndose su reabsorción (284) en los túbulos proximales (214) cuando los niveles en plasma son bajos (158) (296). Las lisozimas de estas células degradan rápidamente el complejo y liberan cadmio libre al citoplasma (284), que es nuevamente ligado a metalotioneína generada en las propias células tubulares (296). Cuando la exposición es reciente, en la que el cadmio se une a la metalotioneína renal, sin llegar a saturar los posibles lugares de enlace, no hay excreción urinaria a no ser que la exposición sea muy elevada (158) (296). Cuando se satura toda la metalotioneína, se produce excreción urinaria de cadmio en proporción a su carga corporal (296).

La concentración de cadmio en heces es un buen indicador de la ingesta diaria reciente (378).

El cadmio induce la síntesis de metalotioneína en muchos órganos, incluidos los riñones y el hígado. Los ratones genéticamente privados de metalotioneína tienen una alta susceptibilidad a la toxicidad por cadmio (248), por lo que la unión del cadmio intracelular a la metalotioneína en los tejidos protege de la toxicidad del cadmio (249) (378). Las células tubulares tienen una cierta capacidad de producción de metalotioneína, que contrarresta los efectos tóxicos del cadmio libre en este lugar. Si la capacidad de producción de la proteína se sobrepasa puede ocurrir un daño en las células tubulares proximales (Ellinder et al, 1982). El cadmio liberado por las lisozimas afecta el metabolismo de la célula (194) (359). Así, Goyer indica que mientras el complejo Cd-MT no es tóxico dentro de la célula, es tóxico para las células tubulares del riñón (178).

La toxicidad del cadmio es el resultado del enlace del metal con especies reactivas o agentes acomplejantes que originan procesos de inhibición enzimática, posiblemente trastocando las funciones de crecimiento y metabolismo tisular (296), probablemente debido a que sustituye al zinc en sus centros activos, además de unirse fuertemente a los grupos SH de las proteínas, al igual que el mercurio (165). Los efectos neurotóxicos del cadmio parecen ser debidos a una interferencia con el zinc más que a un efecto directo del cadmio (359). Los síntomas de la toxicidad del cadmio pueden ser eliminados por la administración de suplementos de zinc (396). La inyección subcutánea de zinc ejerce un

efecto protector de la toxicidad del cadmio por el aumento de MT que induce, aumentando la concentración de MT hepática hasta 80 veces (359).

La intoxicación por cadmio se manifiesta por una variedad de patologías que incluyen: disfunción y lesión renal, hipertensión, daños pulmonares, lesiones óseas (214), disfunciones sexuales, carcinogénesis (546), mutagénesis y teratogénesis (296). Por vía inhalatoria el progresivo aumento en la concentración de cadmio en el aire ambiental origina: ligera irritación pulmonar y leve daño renal, bronquitis crónica, progresivo daño renal, cambios en el metabolismo de calcio y la vitamina D, cáncer de pulmón, anemia, uremia, osteomalacia y osteoporosis (296). Por vía gastrointestinal, la elevación de la dosis de cadmio aumenta la gravedad del daño de la mucosa intestinal, anemia, uremia, disminución de la absorción intestinal, cambios en el metabolismo de calcio y vitamina D, osteomalacia y osteoporosis (296). La ingestión una gran cantidad de cadmio provoca una intoxicación aguda en forma de gastroenteritis, vómitos, diarrea y dolor abdominal (68).

La intoxicación crónica se manifiesta como una intoxicación renal (68). El primer signo de la intoxicación renal es la proteinuria, que puede mantenerse largo tiempo después de haber cesado la exposición (296). El daño renal puede producirse cuando los niveles de cadmio en la corteza renal alcanzan los 200 µg/g tejido (250) (525), considerándose, ésta, la concentración crítica a partir de la cual se produce daño renal (369). El daño renal parece ser irreversible (214).

La enfermedad Itai-Itai, (“ay, ay”), denominada así por la toxicidad ósea inducida y las dolorosas fracturas óseas (215), se produjo en Fuchu, Japón, en 1946, como consecuencia del consumo de arroz contaminado por una planta industrial de plomo y zinc, causando mialgia y reuma crónico en los afectados (68).

Los pacientes diabéticos presentan una susceptibilidad aumentada a la toxicidad renal del cadmio (63) (455).

La OSHA recomienda para la monitorización biológica de los trabajadores expuestos la determinación de cadmio en sangre, cadmio en orina, la β-2-microglobulina y la

creatinina en orina, en virtud de los cuales se podría adoptar la decisión del cambio de puesto de trabajo (369). La β -2-microglobulina es un indicador precoz del establecimiento de una disfunción renal (214) (369). El valor límite de 300 μ g de β -2-microglobulina por gramo de creatinina representa la presencia de daño renal (369).

Si el contenido en el organismo es bajo, la concentración de cadmio en sangre es un indicador de la exposición reciente (400) (diaria) mientras que la concentración de cadmio en orina es un indicador de la acumulación de cadmio en el organismo (75) (369). El valor de la orina se emplea como indicador de la exposición crónica y refleja la carga corporal existente cuando el individuo está expuesto a bajas concentraciones de cadmio y no existe daño renal (296).

Después de una exposición moderada, los niveles de cadmio urinario reflejan el contenido total en el cuerpo humano, mientras que una mayor exposición provoca una sobrecarga que hace que los niveles de cadmio urinario reflejen la exposición reciente (68). Los niveles elevados en personas fumadoras retornan a valores normales al cabo de varias semanas mientras que en personas expuestas durante un tiempo suficiente para almacenar cantidades importantes en el organismo, las concentraciones de cadmio en orina permanecen elevadas durante mucho más tiempo, posiblemente años (369). Debe usarse sangre entera en lugar de suero o plasma ya que éstos dos últimos contienen niveles más bajos de cadmio (400).

El 95% de la población no laboralmente expuesta tiene una concentración de cadmio en sangre inferior a 5 μ g/L (269) valor por encima del cual se debe considerar que existe una significativa exposición al cadmio (369). La Comisión para la Monitorización Biológica Humana de la Agencia Federal de Medioambiente de Alemania, indica un valor de referencia para no fumadores de 1 μ g/L para adultos y 0,5 μ g/L para niños (389). Pesce y Kaplan indican unos intervalos de referencia de 0,1 a 3,5 μ g/L en no fumadores y 0,3 a 6,5 en fumadores (400). Los fumadores tienen concentraciones de cadmio en sangre de 2 a 7 μ g/L dependiendo del número de cigarrillos que fumen al día (356). Lauwerys propone una concentración máxima admisible en sangre de trabajadores expuestos de 10 μ g/L (269). El valor límite biológico (VLB) en España en sangre es de 5

µg/L (219) idéntico al índice de exposición biológica (BEI) recomendado por la ACGIH (338).

La concentración urinaria media en personas no expuestas varía desde 0,5 a 2,0 µg/L (378) generalmente inferior a 1 µg/g creatinina (214) (369), lo que equivale a un 0,01% (378) o un 0,02% (369) de la carga corporal. A pesar de las variaciones debidas a la edad y al hábito de fumar, el 95% de la población no expuesta presenta niveles de cadmio en orina inferiores a 3 µg/g CR (369).

La concentración de cadmio en orina para los fumadores es ligeramente superior que la de los no fumadores y permanece más elevada durante varios años después de haber dejado de fumar (369). Para Lauwerys, la concentración normal de cadmio en orina es inferior a 2 µg/g CR y propone una concentración máxima admisible en orina de trabajadores expuestos de 10 µg/g CR (269) por debajo del cual no es probable que aparezca toxicidad (214). La normativa australiana especifica un valor de 5µg/g CR como valor a partir del cual se debe realizar la determinación de β-2-microglobulina y un valor de cadmio de 10 µg/g creatinina o de β-2-microglobulina de 1,5 mg/g CR, como valores a partir de los cuales se debe iniciar el tratamiento con agentes quelantes (68). La Comisión para la Monitorización Biológica Humana de la Agencia Federal de Medioambiente de Alemania, indica un valor de referencia de 1 µg/g CR para adultos no fumadores y 0,5µg/g CR para niños. El nivel de acción o HBM II es 5 µg/g CR para adultos mayores de 25 años y de 3 µg/g CR para niños y adolescentes (389). El VLB en España es de 5 µg/g de creatinina (219), idéntico al BEI de la ACGIH (338).

Aunque de eficacia relativa, se utiliza una infusión de CaNa₂EDTA como tratamiento de elevadas exposiciones agudas. El tratamiento debe realizarse con prontitud ya que el cadmio se distribuye a lugares donde el quelante no tiene acceso (68). No existe un tratamiento efectivo para la intoxicación con cadmio, no siendo efectiva la terapia con quelantes, como dimercaprol, pudiendo exacerbar la nefrotoxicidad (214).

V.- COBRE

El cobre es un metal de color pardo rojizo, dúctil y maleable. Pertenece al grupo IB de la Tabla periódica. Se suele encontrar en el medio ambiente formando compuestos con valencia 2, pero pueden existir estados metálicos de valencia +1 y +3. Está presente en la naturaleza en una gran variedad de sales minerales y compuestos orgánicos, y en forma metálica. El metal es muy poco soluble en soluciones acuosas, salinas o ligeramente ácidas, pero se puede disolver en los ácidos nítrico y sulfúrico, así como en soluciones básicas de hidróxido o carbonato de amonio (379).

Las fuentes naturales de exposición al cobre son el polvo arrastrado por el viento, los volcanes, la vegetación en descomposición, los incendios forestales y la dispersión marina. Entre las emisiones antropogénicas cabe mencionar los hornos de fusión, las fundiciones de hierro, las centrales eléctricas y fuentes de combustión como los incineradores municipales. El desplazamiento principal del cobre a la tierra se produce a partir de las escorias y el manto de las minas de cobre y los fangos cloacales. El uso agrícola de productos de cobre representa el 2% de la liberación de cobre al suelo (379).

Los minerales de cobre se extraen, funden y refinan para la fabricación de numerosos productos industriales y comerciales. Se utiliza ampliamente en utensilios de cocina y sistemas de abastecimiento de agua, así como en fertilizantes, bactericidas y funguicidas, alguicidas y pinturas antiincrustantes. Se emplea asimismo en aditivos de piensos y estimulantes del crecimiento, así como en la lucha contra determinadas enfermedades del ganado vacuno y de las aves. El cobre se utiliza en la industria como activador en la flotación por espuma de los minerales sulfurosos, la producción de conservantes de la madera, la galvanoplastia, la fabricación de colorantes nitrogenados,

como mordiente para tintes de tejidos, en el refinado del petróleo y en la fabricación de los compuestos de cobre. Es un componente principal de las amalgamas dentales (379).

La bioacumulación puede dar lugar a concentraciones corporales excepcionalmente altas en algunos animales (como por ejemplo los bivalvos) y en plantas terrestres (como las que crecen en suelos contaminados). Sin embargo, muchos organismos son capaces de regular su concentración interna de cobre (379).

La concentración de cobre en el aire depende de la proximidad del lugar a fuentes importantes, como hornos de fusión, centrales eléctricas e incineradoras. El promedio de las concentraciones de fondo en el aire de las zonas rurales oscila entre 5 y 50 ng/m³. El cobre está ampliamente distribuido en el agua porque se encuentra en ella de forma natural. Los niveles ambientales de cobre se suelen medir como concentración total o disuelta, siendo ésta última más representativa de la biodisponibilidad del metal. En las zonas no contaminadas, en el agua marina se encuentran concentraciones de 0,15 µg/L y en el agua dulce de 1 a 20 µg/L. Los sedimentos son un depósito y una reserva importantes de este metal (379).

En general, la ingesta diaria total de cobre por vía oral (alimentos más agua potable) oscila entre 1 y 2 mg/día, aunque ocasionalmente puede alcanzar un valor superior a 5 mg/día (379). Los alimentos más ricos en cobre son el marisco, las nueces, semillas (incluido el cacao en polvo), legumbres, el salvado de los cereales y el hígado (527). En algunos casos, el agua potable puede contribuir a un aumento importante del valor total de la ingesta diaria, sobre todo en hogares con aguas corrosivas y tuberías de cobre. Las demás rutas de exposición, inhalación y vía dérmica, son insignificantes en comparación con la vía oral. La inhalación añade 0,3-2,0 µg/día procedente del polvo y el humo. Las mujeres que utilizan DIU están expuestas a 80 µg/día o incluso menos (379).

En estado divalente (Cu^{2+}) tiene la capacidad de formar complejos con muchas proteínas. En los mamíferos forma parte de la molécula de numerosas cuproproteínas y en consecuencia está presente en proporción fija en la estructura molecular. Estas metaloproteínas constituyen un grupo importante de enzimas que incluyen ceruloplasmina, superóxido dismutasa, citocromo oxidasa, lisil oxidasa, monoamino

oxidasa y tiroxinasa. Si bien no es una enzima, la metaloproteína metalotioneína se fija a diversos metales pesados, incluyendo cobre. El cobre también forma fácilmente complejos con los L-aminoácidos, lo cual contribuye a su absorción en el estómago y el duodeno (400).

Se absorbe con rapidez en el intestino delgado y, en menor proporción, el estómago (527). Se estima que se absorbe de un 15 a un 95%, la cantidad de cobre en la dieta influye en la proporción absorbida (527). La homeostasis del cobre se produce, en parte, por la regulación de la absorción, en la que participa la MT intestinal (527), afectando a su absorción el zinc y el hierro (152).

El cobre que se encuentra en el plasma circula unido, en su mayor parte, a la proteína ceruloplasmina (152), que es una oxidasa que interviene en la unión del hierro a la transferrina plasmática y también en la utilización del hierro, y el resto, un 6%, a la albúmina, que actúa como portadora plasmática del cobre. La concentración plasmática normal de ceruloplasmina es de alrededor 30 mg/100ml (562). El contenido total en el hombre puede variar desde 100 mg (275) a 250 mg (146). El cobre se distribuye en todos los tejidos y podría ser un integrante funcional de todas las células vivientes. El hígado es el principal órgano que recibe el cobre absorbido y el lugar principal de excreción (152). El cuerpo humano contiene entre 100 y 150 mg de cobre de los que un 10% se encuentra en el hígado y un 50% en los músculos y los huesos (152). La concentración en orden decreciente en los diferentes tejidos es: hígado, cerebro, corazón, riñón, páncreas, pulmón, intestino, bazo, aorta, músculo y hueso (152).

En general, se acepta que existe diferencia entre los niveles séricos entre ambos sexos. El intervalo de los niveles de cobre en las mujeres es de 0,80 a 1,55 mg/L (12,6 a 24,4 μ mol/L). Para los hombres es algo menor, 0,70 a 1,40 mg/L (11,0 a 22,0 μ mol/L) (278) (400). En los recién nacidos se han encontrado niveles entre 0,12 a 0,67 mg/L que se elevan a 0,27-1,52 mg/L en niños de 3 a 10 años de edad.(400).

Los niveles de cobre elevados, superiores a 2,0 mg/L pueden deberse al uso de anticonceptivos orales (400) (419) y a la terapia con estrógenos; además, son comunes en el tercer trimestre de embarazo (400). Los niveles de cobre sérico se encuentran elevados

en diversas enfermedades crónicas y agudas, entre ellas la enfermedad de Hodgkin, leucemia y muchos otros procesos malignos, anemia megaloplástica y aplásica, hemocromatosis, fiebre reumática talasemia mayor y menor, diabetes (256), procesos inflamatorios (152) y enfermedades del colágeno (400). También se observan niveles elevados en pacientes con diálisis renal.(400) y en el hipertiroidismo (275). Según Kok, las personas con niveles de cobre elevados tienen un mayor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y cáncer (252), estando correlacionado el cobre sérico con factores predisponentes de enfermedad cardiovascular como el colesterol no-HDL, la edad y el consumo de cigarrillos (323).

Los estrógenos reaccionan con receptores esteroides que se encuentran en los hepatocitos para estimular la síntesis de ceruloplasmina, y los niveles plasmáticos se elevan considerablemente durante el embarazo, especialmente en el último trimestre, o cuando la mujer toma anticonceptivos orales que contiene estrógenos (562). También se produce aumento de ceruloplasmina en aquellas enfermedades que cursan con inflamación o lesión de los tejidos (562).

Los niveles bajos de cobre se encuentran en la enfermedad de Wilson, en el síndrome de Menkes o del “pelo de alambre”, en pacientes quemados, en algunas anemias por deficiencia de hierro, en desnutrición proteica y enfermedad cardíaca isquémica crónica.(400)

Los niveles de Cu en los eritrocitos son relativamente constantes, encontrándose valores de 90 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ (66-112 $\mu\text{g}/100\text{ml}$) (275)) de células sedimentadas (400), concentración similar a la que se encuentra en el plasma (543), de los cuales, el 60% corresponde a la enzima superóxido dismutasa, que cataliza la conversión de radical superóxido a oxígeno molecular y peróxido. La relevancia biológica de esta reacción es incierta, pero podría proteger a los elementos celulares de los efectos nocivos del superóxido (275). La concentración de cobre en los leucocitos es 7 a 10 veces superior que la de los eritrocitos, pero representa sólo el 0,25% del contenido total en la sangre (543).

El hígado desempeña un papel crucial en el metabolismo del Cu. Contiene 6 $\mu\text{g}/\text{g}$. (275). El almacenamiento y la excreción del cobre, así como la síntesis de ceruloplasmina,

están a cargo del hígado. La capacidad del hígado para almacenar cobre, aunque importante, está limitada: puede acumular cerca de 275 mg sin consecuencias serias, pero más allá de esa cifra, se produce daño hepático y el cobre pasa a otros tejidos. El cobre intracelular se encuentra unido principalmente a la MT (379). La principal vía de excreción es la biliar, por la que se eliminan 1,2 mg/día y sólo 0,03 mg en la orina.

La excreción urinaria diaria normal de cobre es de 2 a 37 μg según algunos investigadores, mientras que otros han encontrado hasta 110 μg (110), aunque para Pesce y Kaplan, algunos de los valores publicados inicialmente pueden haber sido afectados por contaminación (400). Los intervalos de referencia que se encuentran en la bibliografía son de 0 hasta 25 $\mu\text{g}/\text{día}$ (148), menor de 30 $\mu\text{g}/\text{día}$ (400), o incluso, hasta 50 $\mu\text{g}/\text{día}$ (278).

El cobre es un elemento traza esencial para los seres vivos. La deprivación experimental de cobre en ratas, pollos, perros y cerdos se asocia a anemia. Esta es hipocrómica y microcítica, signos que implican biosíntesis defectuosa de la hemoglobina (275). Este evento parece ser consecuencia de varias alteraciones del metabolismo del hierro, en los que se ven envueltas las enzimas ceruloplasmina y citocromooxidasa, incluyendo deterioro de la absorción y transferencia del hierro a los macrófagos y hepatocitos al plasma (275). Además de anemia, la carencia de cobre afecta a la síntesis de elastina, con desarrollo de aneurismas disecantes y hemorragias intramurales en vasos importantes. Se observan cambios en el color y la estructura del pelo y la lana, y deformaciones óseas (275). Los lactantes prematuros alimentados con dietas deficitarias en cobre (la leche de vaca es pobre en cobre) presentan una disminución de los niveles séricos de ceruloplasmina y de cobre, junto con anemia, osteopenia, despigmentación de la piel y pelo y retraso psicomotor (146). Casi nunca se produce déficit de cobre en el hombre porque los requerimientos diarios son bajos en relación con su distribución en los alimentos (54). El déficit en personas tratadas con nutrición parenteral total (TPN) produce anemia y neutropenia (146). La anemia es progresiva, y si no se trata puede ser grave (54). Cuando se corrige el déficit, la recuperación es rápida y completa. El cobre podría ser también el responsable de la hemólisis que ocurre después de la hemodiálisis (276).

Se considera que los requerimientos diarios de cobre son de 1,5 a 3 mg/día para los adultos (115) (527) ó 20 µg/kg/día (379) y 50 µg/kg/día para lactantes y niños (379).

Los suplementos de Zn que superan en 10 veces a los ingresos diarios recomendados (15 a 20 mg/día) producen un déficit condicionado de cobre acompañado de anemia (146). De la misma forma, el molibdeno y el Cu compiten entre ellos; una cantidad excesiva de Mo en las terneras produce un déficit de Cu caracterizada por diarrea y emaciación (146). La causa del déficit de cobre después de un empleo excesivo de zinc, se atribuye a la inducción de la proteína intestinal metalotioneína por parte del zinc, que tiene mayor afinidad por el cobre e inhibe la absorción y promueve la excreción (54). En la carencia de cobre secundaria al consumo de zinc, éste se eleva 2 a 3 veces por encima de los valores normales (54). La absorción de cobre puede verse también afectada por altas ingestas de hierro (200) pero no por moderados suplementos de hierro (578) aunque, cuando la suplementación de hierro se asocia a la vitamina C, se incrementa la interferencia (233). El contenido de cobre y plomo en la leche están inversamente relacionados (179).

La deficiencia de cobre en el lactante produce tres síndromes distintos. El primero está caracterizado por síntomas de anemia, hipoproteinemia y bajos niveles séricos de hierro y cobre, que se corrigen con la administración combinada de estos elementos. Un segundo síndrome se produce en lactantes desnutridos que reciben dietas de rehabilitación altas en calorías, bajas en cobre, usualmente por hiperalimentación. La neutropenia pronunciada, anemia, diarrea, alteraciones óseas e hipocupremia observada en estos lactantes responde a la administración de cobre (400).

El tercer síndrome se conoce como síndrome Menkes o del “pelo de alambre”; está causado por un defecto genético ligado al cromosoma X que altera la absorción de cobre por la mucosa intestinal produciendo bajos niveles de cobre en sangre, hígado y pelo, deterioro mental progresivo y defecto en la queratinización del pelo (400) y muerte antes de los dos años de edad (275). La cupremia y la ceruloplasmina son bajas, pero el cobre eritrocitario es normal y no se produce anemia ni neutropenia (275). El cobre parenteral normaliza los niveles séricos pero no revierte las manifestaciones clínicas, quizás porque el daño es irreversible (275)

Además de la hipocupremia registrada en los lactantes, se citan casos ocasionales de deplección en pacientes con kwashiorkor, esprue tropical y no tropical, y síndrome nefrótico (275).

La enfermedad de Wilson o degeneración hepatolenticular es un defecto genético del metabolismo del cobre, heredado como característica autosómica recesiva por ambos sexos (152). El defecto metabólico consiste en una incapacidad para mantener un balance de cobre cercano a cero, porque los lisosomas hepáticos no disponen del mecanismo normal de eliminación biliar del cobre. Esta enfermedad se distingue por una acumulación excesiva de Cu en hígado, cerebro, córnea y riñones, con bajos niveles de ceruloplasmina, ya que el exceso de cobre inhibe la formación de ceruloplasmina. La capacidad de almacenamiento de cobre de los hepatocitos acaba siendo superada, con lo que el metal se libera hacia la sangre y es captado en lugares extrahepáticos. Las consecuencias patológicas del cobre acumulado se manifiestan inicialmente en el hígado, apareciendo un aumento de las transaminasas. Las manifestaciones iniciales de algunos pacientes son extrahepáticas. En general, los trastornos neurológicos y psiquiátricos constituyen los primeros signos clínicos en este grupo y se acompañan siempre del anillo de Kayser-Fleischer. Estos depósitos de cobre, de color verde o dorado, en la membrana de Descemet de la córnea no interfieren en la visión, pero indican la liberación de cobre hepático y el daño cerebral causado. A veces, el diagnóstico se establece en una revisión oftalmológica en pacientes asintomáticos, que presentan anillos de Kayser-Fleisher. Es posible seguir la efectividad de la administración terapéutica de agentes quelantes en la enfermedad de Wilson midiendo la excreción de cobre en la orina.(400)

El diagnóstico se confirma demostrando una concentración sérica de ceruloplasmina inferior a 20 mg/dL y anillos de Kayser-Fleisher o con una ceruloplasmina inferior a 20 mg/dL y una concentración de cobre en la biopsia hepática mayor de 250µg/g de tejido hepático seco (457).

En una fase temprana de la enfermedad, los niveles de cobre en la orina de 24 horas pueden ser normales o ligeramente elevados pero, en las fases avanzadas de la

enfermedad, estos niveles se encuentran notable y uniformemente elevados (241). La mayoría de los pacientes eliminan más de 110 μg de cobre al día en orina y muestran anomalías histológicas en la biopsia hepática. Aproximadamente un 5% de los pacientes presentan una concentración sérica de ceruloplasmina superior a 20 mg/dL y algunos pacientes con otras enfermedades hepáticas presentan niveles elevados de cobre, aunque rara vez anillos de Kayser-Fleisher. En cualquier caso, la determinación de la capacidad de incorporación de cobre radiactivo a la ceruloplasmina es útil como prueba de selección, ya que los pacientes con enfermedad de Wilson apenas incorporan el isótopo a la proteína.

El tratamiento consiste en eliminar o reducir la toxicidad de los depósitos de cobre lo antes posible, siendo el fármaco de elección la penicilamina (457). Inicialmente, la eliminación de cobre en orina de 24 horas debe elevarse cinco veces o más por encima de los niveles previos al tratamiento, pudiéndose eliminar de 1 a 3 mg de cobre al día durante los primeros meses.

Es un elemento poco tóxico. Los trabajadores de fundiciones de cobre, según citan los autores clásicos, eliminaban tal cantidad de metal por la orina, que dejaban cercos en los urinarios de la factoría. En la cirrosis hepática infantil de la India, la absorción de grandes cantidades de cobre debido a la leche hervida en recipientes de cobre o bronce, pese a tener una etiología controvertida, parece ser que tiene como base un trastorno metabólico congénito y que en niños normales, pese a las elevadas dosis de cobre administradas, no aparece (257). Sería, en este supuesto, una enfermedad metabólica que afecta el transporte y utilización del cobre, como sucede en la enfermedad de Wilson o de Menkes (257). La metalotioneína (MT) tiene un efecto protector contra la toxicidad del cobre, encontrándose aumentados los niveles de MT hepática en los pacientes con enfermedad de Wilson (248).

La exposición a humos de cobre o polvos es irritante para las vías respiratorias altas. Puede provocar un síndrome similar a la fiebre de los fundidores de latón (producida por los humos de óxido de zinc) (273). En el refinado del metal se ha comunicado una mayor incidencia de neoplasias pulmonares en trabajadores expuestos, quizá por la presencia de hidrocarburos policíclicos y no por la acción genotóxica del cobre (257). La

inhalación de aerosoles de sulfato de cobre utilizados en el tratamiento de vides, puede ocasionar lesiones pulmonares (257).

La ingestión de sulfato de cobre, por su acción caústica, puede lesionar el tubo digestivo (257). En general, su acción intensamente emética impide la absorción de cantidades elevadas, sin embargo, una vez dañada la mucosa gástrica o intestinal, la absorción es rápida (257). En el caso de absorción de cantidades elevadas de sales de cobre, se producen lesiones renales y hepáticas, e intensa hemólisis (257) (273). Las lesiones renales se producen con niveles de Cu en sangre total de 8 mg/L y niveles de 3 mg/L sólo se relacionan con sintomatología gastrointestinal (257). Es de destacar que el uso de dicho compuesto como alguicida de piscinas y el hermoso color azul de su solución acuosa, son motivo de ingestiones accidentales en niños. Es importante extremar la precaución en la administración por vía parenteral de cobre en pacientes con ictericia obstructiva puesto que la vía principal de excreción es la biliar (474).

Niveles de cobre en suero superiores a 800 mg/L, se relacionan con el aumento de las α_2 -globulinas, recuento de hematíes y niveles de hemoglobina, puede aparecer coloraciones verde-amarillo en la mucosa gingival y hepatomegalia (257). Con valores superiores de Cu sérico se han descrito alteraciones gastrointestinales, anorexia, náuseas y vómitos frecuentes, y trastornos nerviosos centrales y periféricos. En su forma más grave, aparecen neuritis periféricas con afectación de la vía sensitiva, impotencia y hepatitis crónica (257).

El empleo de tuberías de cobre en las instalaciones domésticas de agua potable, da con frecuencia sabor metálico, principalmente cuando el agua permanece estancada largos periodos y hay corrientes parásitas. Pese a que este sabor perdura en los minutos siguientes a la ingestión, carece de riesgo tóxico en los adultos, aunque puede generar emesis y diarreas. Se ha descrito cirrosis hepática cuando la exposición al agua contaminada tiene lugar en los primeros meses de vida (273). El paso de cobre desde recipientes metálicos a los alimentos por solubilización del acetato de cobre, da también, sabor metálico a los mismos. Si la concentración alcanzada es muy alta, puede producir sintomatología por irritación gastrointestinal, que no requiere tratamiento específico (257).

Horng (analyst 1996) observa niveles elevados de cobre en orina en trabajadores de plantas de producción de aceros, por lo que, aunque la correlación de esta elevación y la de posibles patologías es discutida, recomienda una mejora en las condiciones de ventilación y prácticas de higiene (212). Baranowska et al, en 1995, no encuentran concentraciones de cobre elevadas en autopsias de huesos de adultos que vivían en un distrito industrial de Polonia que sufrió un desastre ecológico al contrario que con los niveles de plomo (26).

Aunque muy infrecuente en la práctica clínica, hay casos descritos de alergia al Cu, que cursa con dermatitis de contacto, tanto en la ingestión del metal como por contacto directo (257).

Los dispositivos intrauterinos, que aprovechan la acción espermatotóxica directa del cobre, no generan problemas toxicológicos relevantes, pues la absorción sistémica del metal es pequeña (257).

La toxicidad del cobre es una complicación potencial en pacientes sometidos a hemodiálisis crónica (400).

La mayoría de los plásticos y material de vidrio están, relativamente, libres de cobre (379). No existen apreciables problemas de contaminación en la determinación de cobre (101), aunque el cobre se encuentra frecuentemente y de forma natural en el polvo doméstico, por lo que deben tenerse ciertas precauciones para evitar la contaminación de las muestras (379).

Los métodos basados en la espectrometría de absorción atómica son los más usados para la determinación de cobre en diferentes matrices (379). Un gran aumento de sensibilidad se consigue al utilizar la atomización electrotérmica en vez de la atomización por llama (379). Un incremento aún mayor de sensibilidad se obtiene con la utilización de ICP-MS (379).

Las técnicas utilizadas en los laboratorios de análisis clínicos para la determinación de cobre en muestras biológicas son la colorimetría, la espectrometría de absorción atómica y atomización por llama (FAAS), la espectrometría de absorción atómica y atomización electrotérmica (ETEAS) y la ICP-AES (22).

Los métodos colorimétricos fueron los primeros métodos analíticos, desarrollados durante los años 50 y 60, para medir la concentración de cobre en el suero aunque después se adaptaron para realizar su medición también en la orina y los tejidos. Se basan en la absorción del complejo formado por el cobre con un agente quelante. Entre estos los más empleados fueron el dietilditiocarbamato, la 4,7-difenil-1,10-fenantrolina, el 2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolina (batocuproína), la bisciclohexanonaoxalil dihidrazona (cuprizona) y la oxalildihidrazida. Los dos últimos presentan la mayor sensibilidad pero hay que cuidar más las condiciones analíticas debido a la mayor facilidad de contaminación. El método de la batocuproína es el más específico de todos manteniendo una sensibilidad aceptable, aunque requiere una desproteinización previa y un volumen de muestra de 1 a 2 mL (174).

Los métodos de elección para la determinación de cobre en suero y orina son la espectrometría de absorción atómica con atomización por llama y por atomización electrotérmica, respectivamente, aunque para la realización del perfil mineral de una persona la técnica ICP-AES que presenta la ventaja de ser multielemental (22).

La concentración de cobre eritrocitario, al contrario que el cobre sérico, se eleva sólo ligeramente en los procesos inflamatorios, por lo que parece un indicador de la deficiencia de cobre más útil que el cobre sérico (543).

En la Tabla V.1 se indican los parámetros analíticos de las distintas técnicas para la determinación de cobre en suero.

Tabla V.1.- Distintos parámetros analíticos para las diferentes técnicas utilizadas para la determinación de cobre en suero

Parámetro	Colorimetría	ICP-OES	FAAS	ETAAS
Dilución empleada	1/1	1/5	1/5	1/20

Límite de detección (3 SD del blanco)	2,4 µmol/L (15 µg/dL)	0,02 µmol/L (0,13 µg/dL)	1,2 µmol/L (7,63 µg/dL)	0,16 µmol/L (1,03 µg/dL)
Linealidad	70 µmol/L (500 µg/dL)	200 µmol/L (1371 µg/dL)	50 µmol/L (318 µg/dL)	159 µmol/L (µg/dL)
Recuperación	98 %	98-114 %		101 %
Repetibilidad	1,6% con 16,3 µmol/L (N=10)	0,9% con 10,0 µmol/L (N=20)	2%	1,7% con 15,9 µmol/L (N=20)
Precisión intradía				
Reproducibilidad	2,8% con 19,4 µmol/L (N=14)	4,7% con 25,0 µmol/L (N=10)		2,7% con 21,8 µmol/L (N=30)
Precisión interdías				
Referencia	(2) Abe et al, 1984	(80) Chappuis et al, 1992	[340] Arnaud, 1995	(286) Liska et al, 1985

La determinación de cobre sérico se puede realizar después de una simple dilución de la muestra (22), pero ha de llegarse a una solución de compromiso entre sensibilidad analítica y dilución que evite problemas de atasco en el tubo de aspiración del nebulizador y de partículas sólidas en la ranura del mechero. Se han propuesto diluciones desde una dilución 1/2 (174) hasta 1/5 (22). Con la primera se obtiene más sensibilidad mientras que con la última (que es la empleada en el análisis del zinc) se evitan problemas de obstrucción (174). Una llama aire/butano aumenta la sensibilidad un 40% con respecto a la clásica llama de aire/acetileno, aunque se prefiere ésta última por tener una mayor practicabilidad (22). Se emplean todavía los métodos que utilizan una desproteinización previa de la muestra con ácido tricloroacético se emplean todavía (498).

La ETAAS es el método de elección para determinar cobre en orina puesto que los valores de referencia en orina son mucho más bajos que los correspondientes en suero (22). Para Arnaud, el empleo de un modificador y la corrección de fondo son innecesarias (22).

VI.- PLOMO

El plomo, pese a ser un elemento al que no se le conoce función fisiológica alguna, ha estado presente en el organismo humano desde tiempos remotos, ya que por su fácil metalurgia, fue uno de los primeros metales conocidos por el hombre (313).

El plomo es un metal blando, gris plateado, que funde a 327,5°C. Es muy resistente a la corrosión, pero es soluble en ácido nítrico y en ácido sulfúrico en caliente. Su valencia corriente en los compuestos inorgánicos es +2. Su solubilidad en agua varía; el sulfito de plomo y los óxidos de plomo son poco solubles, mientras que las sales de nitrato, clorato y cloruro son moderadamente solubles en agua fría (380).

El plomo metálico, que es la forma fundamental de la contaminación ambiental, sólo es tóxico cuando se funde a temperaturas próximas a los 500°C, puesto que los vapores que emite son tóxicos y una vez en las vías respiratorias alcanzan fácilmente los alvéolos. Los vapores se oxidan rápidamente, haciéndose poco solubles. Según su peso y contenido en agua quedarán más o menos tiempo en suspensión en el aire para, finalmente, caer al suelo (539).

Dentro de los derivados inorgánicos destacan el óxido de plomo rojo o minio (Pb_2O_3), base de las pinturas anticorrosivas, el litargirio (PbO) o protóxido de plomo, el bióxido de plomo (PbO_2), el cromato de plomo, que es un magnífico colorante amarillo, el arseniato de plomo, base de numerosos insecticidas, el carbonato de plomo o galena, que es tal como se encuentra en la naturaleza, que es insoluble y se emplea en alfarería rústica y otras sales como el sulfato de plomo o blanco de Mulhouse, y antimoniato de plomo o amarillo de Nápoles (539)

Los derivados orgánicos son muy empleados en la industria y destacan (539):

- El acetato de plomo o sal de Saturno, que es muy soluble y el único que produce intoxicaciones agudas por vía digestiva. Se ha empleado como abortivo
- Tetraetilo de plomo: antidetonante que se ha venido adicionando a la gasolina para aumentar su capacidad de compresión, elevando así su rendimiento.
- Estearato de plomo: se usa para dar estabilidad y consistencia al plástico.
- Naftenato de plomo: es componente de numerosas grasas y aceites de uso industrial.

El nivel de plomo en la corteza terrestre es de aproximadamente 20 mg/kg (380). El plomo del medio ambiente puede provenir de fuentes antropogénicas o naturales. Las fuentes naturales de plomo atmosférico comprenden el desgaste geológico y las emisiones volcánicas (380). Se estima que las fuentes naturales suponen una liberación de 19000 toneladas de plomo por año, frente a unas 126.000 toneladas por año emitidas en el aire como resultado de la minería, la fundición y el refinado (380).

Los niveles de plomo presentes en el aire, los alimentos, el agua y el suelo o polvo, varían ampliamente en el mundo y dependen del grado de desarrollo industrial (380). La absorción de plomo del aire puede variar de menos de 4 µg/día hasta 200 µg/día (380). Los niveles de plomo presentes en las aguas rara vez exceden de unos pocos microgramos por litro, los niveles de plomo en muestras de agua de bebida extraídas de los manantiales suelen ser inferiores a 5 µg/L de los que 0,02 µg/L se estima tienen un origen natural; sin embargo, el agua del grifo de viviendas cuyas tuberías contienen plomo, contiene niveles que exceden de 100 µg/L (380). Los niveles básicos de plomo en el suelo oscilan entre 10 y 70 mg/kg y se ha comunicado un nivel medio de 138 mg/kg en las proximidades de las carreteras (380).

Hay poca bioacumulación del plomo inorgánico a través de la cadena alimentaria (380). El nivel de exposición al plomo a través de la dieta depende de muchos factores relacionados con el modo de vida como los alimentos que se consumen, la tecnología de elaboración, el empleo de soldadura de plomo, los niveles de plomo en el agua y la utilización de cerámica con barniz de plomo (380). Se estima que la cantidad de plomo

que ingresa el organismo a causa de la contaminación de los alimentos oscila entre 100 y 400 μg al día. A veces se producen intoxicaciones por las vasijas de barro esmaltadas o pintadas con compuestos de plomo (539).

Los métodos utilizados más corrientemente para el análisis de bajas concentraciones de plomo en muestras biológicas y ambientales son la AAS con atomización de llama, la ETAAS, ICP-OES y la voltametría de redisolución anódica (380). Según sean el tratamiento previo de la muestra, las técnicas de extracción y la instrumentación analítica, pueden alcanzarse niveles de detección de plomo de 0,12 μmoles de plomo por litro de sangre (2,49 $\mu\text{g/dL}$) (380). En la tabla VI.1 se observan los límites de detección y el tratamiento de la muestra de distintos métodos de análisis con distintas técnicas. El modificador de matriz más utilizado es el fosfato en forma de dihidrógenofosfato de amonio o el hidrógeno fosfato de amonio, pudiéndose llegar a utilizar temperaturas de 700 a 800°C en la etapa de pirólisis (504). Aunque las interferencias de matriz no se eliminan por completo por lo que debe utilizarse el método de adiciones estándar (504).

White, en 1999, indica que el plomo sanguíneo puede ser determinado con exactitud, menor límite de detección y mejor precisión a bajas concentraciones, con una técnica ICP-MS con introducción de muestra por inyección de flujo previa dilución de la misma 1+5 (v/v) con una disolución 0,05% EDTA, 0,03M NH_3 y 0,05% Titón X-100 (566).

Tabla VI.1.- *Metodos analíticos para la determinación de plomo en muestras biológicas.*

Tipo de muestra	Tratamiento de la muestra	Técnica instrumental	Límite de detección en la muestra	Referencia
Sangre	Diluir 1+19. Modificador fosfato amónico y EDTA	ETAAS	0,004 $\mu\text{mol/L}$ (0,08 $\mu\text{g/dL}$)	(475) Shuttler y Delves, 1986
Sangre	Diluir 1+9 con 0,5% Triton X-100. Modificador fosfato diamónico	ETAAS	25 pg (masa característica)	(326) Miller et al, 1987
Sangre	Diluir con Triton X-100 y añadir ácido nítrico y fosfato diamónico	ETAAS	0,011 $\mu\text{mol/L}$ (0,24 $\mu\text{g/dL}$)	(11) Aguilera de Benzo et al, 1989
Sangre	Diluir con 0,2% Tritón X-100 y agua	ETAAS	0,072 $\mu\text{mol/L}$ (1,5 $\mu\text{g/dL}$)	(412) Que Hee et al, 1985
Sangre	Diluir con una solución amónica	ICP-MS	0,072 $\mu\text{mol/L}$	(114) Delves y

	con Triton X-100		(1,5 µg/dL)	Campbell, 1988
Sangre	Diluir con una solución amónica con Tritón X-100 y EDTA	ICP-MS	0,0005 µmol/L (0,01 µg/dL)	(566) White, 1999
Orina	Diluir 1+9 con Triton X-100	ETAAS	0,0005 µmol/L (0,01 µg/dL)	(510) Tahán et al, 1994

Zong et al, en 1998, indican que la sobrecorrección producida por la presencia de fosfatos no se ve afectada por la temperatura de atomización, pero que se reduce con la utilización de tubos de grafito con tapas “end-cup” (584).

Con incluso una dilución de 1 a 10 se produce una considerable acumulación de residuo de carbonatos no volátil que provoca que la gota de muestra sea depositada de forma irregular, velocidades irregulares de atomización y oclusión parcial del haz de luz incidente (504).

En la población general que no fuma, la principal vía de exposición son los alimentos y el agua (380). Para los niños, el plomo presente en el polvo y en el suelo suele ser la principal vía de exposición. La cantidad de plomo en éstos depende de la antigüedad y estado de la vivienda, la utilización de pinturas a base de plomo, el plomo de la gasolina y la densidad urbana (380). La contaminación por gasolina plomo es la principal fuente de contaminación en las grandes ciudades y la contaminación industrial sólo desempeña un papel muy local (539). Aunque el plomo adicionado a la gasolina es orgánico, el 75% del plomo que sale por el tubo de escape de un vehículo es inorgánico (halogenuros, oxihalogenuros, óxidos, sulfatos y carbonatos), de una granulometría fina, con un diámetro medio de 0,45 µm, por lo que alcanzan fácilmente el alveolo (539).

El consumo de alcohol, como tal, no se correlaciona con la concentración de plomo en sangre. Un mayor consumo de cerveza y licores no aumentan el plomo sanguíneo. El consumo de vino, al contrario, aumenta los niveles de plomo en sangre debido al mayor contenido de plomo en el mismo (466).

Tabla VI.2.- Actividades responsables de intoxicación por plomo. Tomada de (313) Marqués Marqués F. *Plomo: Criterios toxicológicos actuales para la vigilancia médica de trabajadores expuestos. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Madrid (1993).*

ACTIVIDADES INDUSTRIALES	Riesgo elevado	Fusión primaria del mineral (minería y fundición) Fusión secundaria o recuperación de chatarra Fabricación/demolición de baterías Fabricación de plásticos en los que se usa estearato de plomo como estabilizante Pulido y refinado de metales Desguace buques/Demolición estructuras metálicas pintadas (puentes) Fabricación y uso de pinturas Fabricación/utilización de barnices y esmaltes para cerámicas Talleres de automóviles/repación de radiadores
	Riesgo moderado	Fabricación de cables Fabricación de armas y balines de plomo. Instructores de tiro en locales mal ventilados Talleres de reparación de automóviles Joyeros Empalmadores de hilos metálicos Soldadura de circuitos en la industria electrónica Impresores, tipógrafos, linotipistas Fontaneros/soldadores Empleados de aparcamientos/conductores/taxistas/ policía urbana Limpieza de cisternas que almacenan derivados de alquil plomo
ACTIVIDADES NO LABORALES		Cocinar y/o almacenar alimentos en recipientes de cerámica vidriada Consumo de harinas contaminadas Consumo de bebidas alcohólicas clandestinas destiladas utilizando serpentines plomados Consumo de vinos contaminados con plomo Esnifadores de gasolina Drogas de uso intravenoso adulteradas Trabajos de decapado térmico en técnicas arqueológicas o de restauración de pinturas en tapices Ingestión de remedios populares con fines medicinales o afrodisíacos Reabsorción de proyectiles y trozos de metralla retenidos en el organismo Utilización de nitrato de plomo como aditivo en productos cárnicos

Son más de un centenar las actividades industriales susceptibles de producir una exposición a plomo inorgánico. En la tabla VI.1 se recogen las actividades que con más frecuencia son responsables de intoxicación por plomo. Las actividades de mayor riesgo son aquellas en las que el plomo metálico o inorgánico es calentado y se forman aerosoles y humos en grandes cantidades (soldaduras, mezclas de vidrio, fabricación de plásticos, fundiciones, etc.) (313). Especial riesgo tienen aquellos trabajadores envueltos en la eliminación de pinturas antiguas o en la demolición de edificios con pinturas antiguas, antes de 1975, con alto contenido en plomo (214).

Según la especiación química, el tamaño de las partículas y la solubilidad en los líquidos corporales, se absorbe desde un 30% hasta un 50% de los compuestos de plomo inhalados (141). La vía respiratoria es la vía de exposición más importante. Se calcula que el 50% de las partículas inhaladas son retenidas y de éstas se absorberá el 90% (539).

Por vía digestiva la absorción es escasa por la baja solubilidad de los compuestos de plomo (excepto el acetato de plomo) y puede oscilar entre un 5 y un 10% de la cantidad ingerida (539). En los seres humanos adultos se absorbe aproximadamente el 10% del plomo contenido en la alimentación (380) y (250). Los lactantes y los niños pequeños absorben entre el 40% (250) y el 50% del plomo presente en la alimentación (380). Las dietas pobres en calcio, fósforo, selenio o zinc pueden dar lugar a una mayor absorción de plomo, así como el hierro y la vitamina D (380). La deficiencia de Ca, Fe y el Zn, además de incrementar la absorción de plomo, origina que exista un intercambio del catión esencial por plomo en moléculas bioquímicamente activas, como, por ejemplo, receptores en el cerebro y ciertas enzimas (178) (179). Además, el contenido de cobre y plomo en la leche están inversamente relacionados (179). La absorción por vía dérmica es mínima (380). La leche materna tiene un aporte adicional de plomo procedente de la movilización del almacenamiento del mismo en los huesos si la madre ha tenido una exposición prolongada al plomo, por lo que, en estas condiciones sería recomendable medir la concentración de plomo en la leche (186).

La absorción por vía dérmica, solo aparece en personal laboral expuesto y en el caso de utilización de cosméticos de alto contenido en plomo. Por vía cutánea sólo se absorben los derivados orgánicos, que son muy liposolubles (539). Los derivados inorgánicos no son absorbidos, siempre y cuando la piel se mantenga íntegra (353).

El 90% del plomo en sangre se encuentra ligado a los hematíes (539) y otra fracción sérica se encuentra ligada a las proteínas séricas de azufre (539). Un 99 % del plomo sanguíneo se encuentra unido a la hemoglobina de los glóbulos rojos (151).

Una vez absorbido, el plomo no se distribuye de manera homogénea en todo el cuerpo, corresponde a un modelo tricompartmental, tras una aparición rápida en la sangre y los tejidos blandos hay una redistribución más lenta a los huesos. Dos de los compartimentos: sangre y tejidos blandos, tienen un papel activo en la cinética del plomo, mientras que el hueso y los dientes actúan como compartimentos de almacenamiento (205). El segundo compartimento lo forman los tejidos blandos, principalmente el riñón y el hígado, donde la vida media es de 40 días (539).

Los huesos acumulan plomo durante gran parte de la vida humana y pueden actuar como fuente endógena de plomo (380). El plomo depositado en el hueso es fácilmente movilizado a la sangre siendo este efecto más evidente en personas con una exposición laboral prolongada (380). Cobra especial importancia este hecho en mujeres embarazadas, puesto que la transferencia de plomo al feto se efectúa fácilmente durante la gestación, y en lactantes (214) (477). El tercer compartimento lo constituye el hueso, donde sustituye al calcio, que contiene el 90% del plomo almacenado en el organismo. En situaciones patológicas de acidosis, descalcificación, dieta, puede movilizarse de los huesos produciendo cuadros agudos de intoxicación (539). La vida media del plomo en hueso de aproximadamente 20 años (415).

La semivida del plomo en la sangre y en otros tejidos blandos es de aproximadamente 28-36 días, pero es mucho más larga en los diversos compartimentos óseos (380). La vida media en la sangre es de 35 días (539).

El plomo se excreta fundamentalmente por orina (80%) y de forma secundaria por heces, sudor, saliva, uñas y pelo (539), estando las vías de excreción urinaria y biliar afectadas por la edad (380). En personas no expuestas profesionalmente, el balance absorción excreción debe ser cero o ligeramente positivo (alrededor de 10 $\mu\text{g}/\text{día}$) (539). En personas expuestas, se irá acumulando en el hueso de modo progresivo (539). Puesto que el mecanismo de transporte en la nefrona es por filtración glomerular y los eritrocitos no atraviesan la membrana, el contenido de plomo en orina fluctuará de acuerdo a los niveles de plomo plasmático (313).

El nivel de plomo en la sangre es la medida más utilizada para determinar la exposición al plomo, pero al tener una vida media en sangre relativamente corta, generalmente refleja una exposición reciente, de aproximadamente un mes (539), impidiendo la correcta valoración de la carga corporal (313). Puede ser, sin embargo, un razonablemente buen indicador de la carga corporal en situaciones de exposición estable (75). Mediante una única determinación de este parámetro, no es posible la diferenciación de un nivel bajo de exposición crónica, en el que indica la liberación de plomo procedente de los huesos (262), de una alta exposición breve (539). El nivel de plumbemia considerado normal en adultos, es decir, el que se halla en la población

general, es inferior a 20 $\mu\text{g/dL}$ (0,96 $\mu\text{mol/L}$) (148) (271) (547), encontrándose todos los efectos de importancia clínica relacionados con concentraciones superiores a esa cifra (380). La Comisión para la Monitorización Biológica Humana de la Agencia Federal de Medioambiente de Alemania, indica unos valores de referencia de 12 $\mu\text{g/dL}$ para hombres, 9 $\mu\text{g/dL}$ para mujeres y 6 $\mu\text{g/dL}$ para niños (389). En EE.UU. la media geométrica es de 2,3 $\mu\text{g/dL}$ y continúa disminuyendo debido a la reducción en los niveles de plomo en gasolinas, pinturas y latas para las bebidas (404). La administración americana recomienda un valor de 40 $\mu\text{g/dL}$ (1,92 $\mu\text{mol/L}$) como valor de plumbemia máxima tolerable en personas adultas laboralmente expuestas (271), la CDC indica 10 $\mu\text{g/dL}$ en niños debe ser la cifra a partir de la cual debe ser objeto de preocupación (215). En Alemania, el HBM I, o valor de alerta es de 10 $\mu\text{g/dL}$ para niños y mujeres en edad de procrear, y 15 $\mu\text{g/dL}$ para mujeres mayores de 45 años y hombre. El HBM II, o nivel de acción es de 15 $\mu\text{g/dL}$ para niños y mujeres menores de 45 años, y 25 para mujeres mayores de 45 años y hombres (389). El VLB en España es de 70 $\mu\text{g/dL}$ (223).

Lauwerys indica que sería preferible expresar los resultados por volumen de hematíes, en lugar de hacerlo por volumen total, ya que más del 95% del plomo se halla ligado a los hematíes (271).

Al contrario que la sangre, la concentración de plomo en los dientes, es un buen índice de exposición prolongada, aunque para la interpretación de los resultados es necesario tener en cuenta el tipo y la parte del diente (380). Se dispone de técnicas no invasivas, por medio de fluorescencia de rayos X, para determinar la cantidad de plomo presente en los huesos, aunque, por el momento, son poco sensibles (380). La determinación de plomo en pelo no es útil para determinar el grado de exposición (380).

La concentración de plomo en sangre, orina y cabello dependen de la edad y de factores medioambientales como el lugar de residencia (zona urbana o no) (168) o casas más antiguas (404).

La concentración de plomo en orina es un índice poco fiable ya que sufre grandes fluctuaciones al cesar la exposición y está influido, entre otros factores, por el estado de la función renal (313), existiendo una baja asociación con la plumbemia por lo que no se

utiliza en la práctica para apreciar el riesgo de exposición excesiva al plomo (271). La plumburia normal es inferior a 50 $\mu\text{g/g}$ de creatinina, considerándose excesivos los valores superiores a 150 $\mu\text{g/g}$ creatinina (271). El mejor índice biológico para expresar la carga corporal es el test de movilización del plomo por la administración de EDTA-Ca o concentración urinaria de 24 horas posterior a una administración de EDTA-Ca, pero es una prueba que presenta riesgo de agravamiento de encefalopatías previas y necrosis tubular aguda (313). Una concentración superior a 500 o 600 $\mu\text{g}/24\text{ h}$ es la evidencia de una carga corporal excesiva (313).

Los indicadores de efecto biológico traducen la presencia de lesión orgánica y están basados en el efecto crítico del plomo sobre el metabolismo de las porfirinas. El plomo afecta principalmente a la síntesis del grupo hemo al inhibir algunas de las principales enzimas implicadas en su formación (313). En un primer paso, la glicina y el coenzima A se convierten en ácido δ -aminolevulínico (ALA) el cual es convertido en un porfobilinógeno con la intervención de la δ -aminolevulínico deshidratasa (ALA-D). El porfobilinógeno, mediante una serie de reacciones dirigidas por la coprogenasa, es convertido en protoporfirina, y finalmente, la ferroquelatasa cataliza la inserción del hierro de la ferritina dentro del anillo de la protoporfirina para formar el grupo hemo (ver figura VI.1) (413).

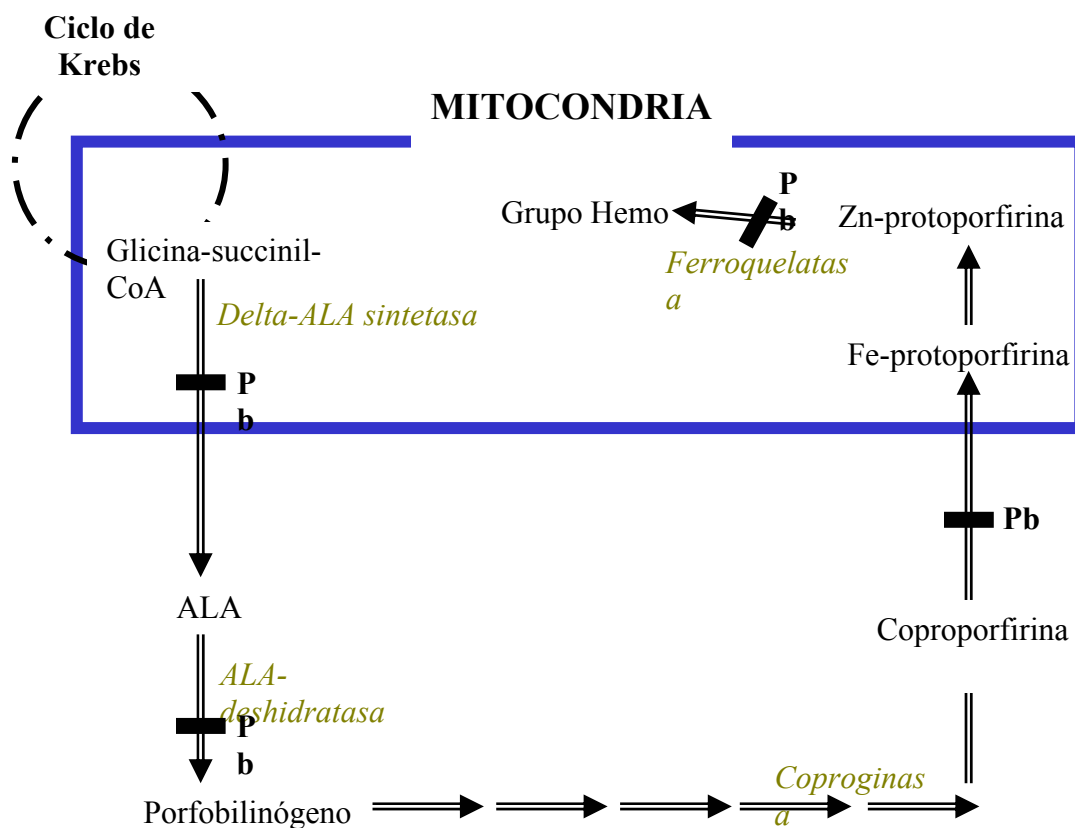


Figura VI.1.- Esquema de la acción inhibidora del plomo en la biosíntesis del grupo hemo. Tomada de [323] Quer-Brossa S. Toxicología Industrial. Salvat Editores S.A. Barcelona (1983)

El punteado basófilo de los hematíes se debe al depósito y aglomeración de los ácidos nucleicos producidos al inhibir el plomo la enzima piridin-5-nucleotidasa eritrocitaria, encargada de metabolizar los nucleótidos residuales eritrocitarios es un índice de toxicidad de baja especificidad y sensibilidad (313).

La protoporfirina eritrocitaria libre o unida al zinc indica la inhibición ejercida sobre la ferroquelatasa mitocondrial, que impide la inserción de hierro en el núcleo porfirínico para la síntesis del grupo hemo. Lamola y Yamene en 1974, demostraron que la molécula de protoporfirina eritrocitaria, que se suponía circulaba libremente en el interior del hematíe, en realidad se hallaba ligada a la hemoglobina y captaba zinc secundariamente, dando lugar a la zinc-protoporfirina (ZPP). En presencia de plomo o

en estados ferropénicos, los niveles normales de ZPP, que no sobrepasan los 35-50 $\mu\text{g/dL}$, se multiplican por 5 o 10 veces. El umbral de respuesta se sitúa entre 12 y 25 $\mu\text{g/dL}$ de plomo en sangre, con la que tiene un elevado coeficiente de regresión ($r=0,9$) (313).

Un aumento en la protoporfirina eritrocitaria se observa en niños a partir de 0,72 a 1,2 $\mu\text{mol/L}$ (15-25 $\mu\text{g/dL}$) y a partir de 1,20 a 1,44 $\mu\text{mol/L}$ (25-30 $\mu\text{g/dL}$) en hombres y a partir de 0,96-1,44 $\mu\text{mol/L}$ (20-30 $\mu\text{g/dL}$) en mujeres (380).

El plomo inhibe en el eritroblasto tres enzimas clave que intervienen en la producción del grupo hemo y particularmente la δ -ALA-deshidratasa, que cataliza el paso de las moléculas del ácido delta aminolevulínico (δ -ALA) a porfobilinógeno, inhibiendo la síntesis de hemoglobina (539). Aunque la enzima ácido aminolevulínico-deshidratasa (ALA-D) es el marcador biológico más precoz y sensible, se iniciaría la inhibición a niveles de plomo en sangre de 5 a 15 $\mu\text{g/dL}$, es una prueba compleja que requiere estrictos controles lo que la hacen tediosa y poco operativa (313).

La determinación urinaria de ácido aminolevulínico (ALA-U) y coproporfirina III (CP-U) tiene un interés secundario, ya que son menos sensibles y específicas que la ALA-D y la ZPP. Las dos se normalizan rápidamente cuando cesa la exposición por lo que estos parámetros combinados con la ALA-D y la ZPP, que permanecen alteradas durante más tiempo, puede ser útil para diferenciar una exposición reciente de una pasada (313). La coproporfirina urinaria se eleva significativamente cuando la concentración de plomo en sangre supera 1,92 $\mu\text{mol/L}$ (40 $\mu\text{g/dL}$) (380).

El plomo inhibe múltiples enzimas y puede unirse a proteínas que tengan grupos sulfhidrilos que explica en gran medida la acción patógena del plomo (539).

En el ser humano, el plomo puede tener una amplia variedad de efectos biológicos según el nivel y la duración de la exposición, desde la inhibición de enzimas hasta la producción de acusados cambios morfológicos y la muerte (380).

La anemia es la manifestación clásica de la toxicidad del plomo. A concentraciones tan bajas como 10 µg/dL el plomo comienza a inhibir la ALA-D, que se encuentra completamente inhibida a niveles de plomo en sangre entre 70 y 90 µg/dL (262). Además el plomo provoca daño neurológico, toxicidad renal e hipertensión (262).

La intoxicación de plomo provoca trastornos del estado general (cefaleas, pérdida de apetito, palidez, laxitud y mialgias frecuentes), anemia, cólico saturnino (la más frecuente), polineuritis motriz, hipertensión paroxística y encefalopatía saturnina (380). Los síntomas de la intoxicación por plomo aparecen cuando los niveles de plomo exceden los 80 µg/dL por un periodo de semanas (214).

Se recomienda el tratamiento con agentes quelantes, particularmente DMSA, en aquellos individuos con una concentración de plomo en sangre mayor de 80 µg/dL o para aquellos entre 60 y 80 µg/dL que experimenten síntomas o aquellos entre 40 y 60 µg/dL cuyos síntomas perduren dos semanas después de remitir la exposición al plomo (214).

Una exposición crónica al plomo puede provocar nefritis intersticial, daño tubular, hiperuricemia con un aumento del riesgo de padecer gota, disminución de la velocidad de filtración glomerular, insuficiencia renal crónica (214), hipertensión permanente e, incluso, cáncer (271) aunque los indicios de carcinogenicidad del plomo en el ser humano son insuficientes (380). No está claro que la terapia con quelantes pueda reducir estos riesgos de toxicidad crónica (214). Exposiciones a bajas concentraciones de plomo en niños menores de 5 años, con niveles en sangre de 5 a 25 µg/dL, provocan alteraciones en el desarrollo intelectual del niños con disminución en el coeficiente de inteligencia (214).

En España, y siguiendo los criterios contenidos en la Directiva 82/605/CEE, se halla vigente en el “Reglamento para la prevención de riesgos y protección de la salud de los trabajadores por la presencia de plomo metálico y compuestos iónicos en el ambiente de trabajo” (BOE 24/4/86 y BOE 3/6/86). En el mismo se considera trabajador expuesto aquél que durante un tiempo superior a 30 días por año desarrolla su trabajo en un ambiente cuya concentración sea igual o superior a 40 µg/m³ o aquel en el que la

concentración de plomo en sangre sea igual o superior a 40 µg/dL para hombres y 30 µg/dL para mujeres (387). En el citado reglamento se considera como valor máximo admisible de plomo en sangre 70 µg/dL (387). El índice de exposición biológica (BEI) de la ACGIH para el plomo sanguíneo es de 30 µg/dL (338).

VII.- SELENIO

El selenio, aunque en la corteza terrestre se encuentra en pequeñas cantidades, es el 70° de 98 elementos que forman la corteza terrestre, es muy útil a la humanidad (374). Durante algunos años fue considerado un elemento tóxico sin ningún interés práctico pero, al comienzo del siglo XX, aparecieron algunas aplicaciones industriales. El selenio confiere un color rojo intenso al vidrio y, en combinación con otras sales, otros colores como el marrón, rosa y amarillo. Además, paradójicamente, elimina indeseados tonos grisáceos del vidrio, por lo que la industria del vidrio y la cerámica comenzaron a ser usuarios de selenio (374). Aún así, la demanda de selenio era todavía pequeña, alrededor de 5000 kg en 1910. Durante la segunda guerra mundial, la demanda de selenio se incrementó debido a la supresión de las importaciones procedentes de Alemania y al descubrimiento de que el selenio era un excelente sustituto del manganeso en la fabricación del vidrio (374). En 1930, el proceso de fotocopiado se había desarrollado con la utilización de selenio, incrementando la demanda hasta aproximadamente 2300 toneladas anuales (374). Alrededor de la mitad del siglo XX, un bioquímico alemán, Klaus Schwarz, cambió para siempre el concepto de que el selenio era un mero tóxico medioambiental cuando demostró que, en pequeñas cantidades, actuaba como un nutriente esencial (374).

El selenio, aunque ampliamente extendido, tiene una distribución irregular en la corteza terrestre (380). Hay zonas donde el contenido en el suelo es muy bajo, como ocurre en diversas áreas de China, Finlandia y Nueva Zelanda, donde es menor de 0,05 ppm. Sin embargo, en otras áreas, denominadas áreas seleníferas, existe un exceso de elemento, como ocurre en Canadá, llanuras de Estados Unidos, Colombia, Irlanda, cuenca del Orinoco en Venezuela y algunas áreas de China, donde es mayor de 5 ppm.

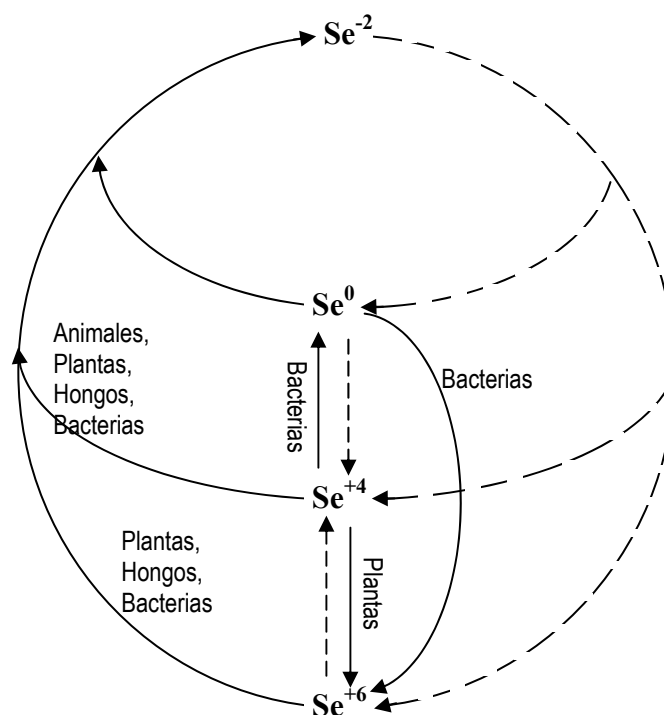


Figura VII.1.- Ciclo Biológico del Selenio. Las rutas bien comprobadas aparecen en línea continua y las que necesitan una verificación en línea discontinua. Tomado de [347] OMS. *Environmental Health Criteria 58: Selenium. Geneva, World Health Organisation. (1987)*

Factores como el pH del suelo, potencial redox, presencia de compuestos orgánicos e inorgánicos, condiciones climáticas, etc., van a influir de forma importante en la distribución y estatus nutricional del Se (513). En suelos alcalinos con un adecuado flujo de agua, el selenio tiende a formar selenatos, (Se^{+6}), altamente disponibles para las plantas, al contrario que en suelos ácidos y con poco flujo de agua, en los que el selenio, en forma de selenito, forma complejos con los óxidos de hierro y de aluminio, bastante insolubles, que las plantas difícilmente pueden absorber del suelo (374). Las diferentes formas alotrópicas de selenio elemental son bastante insolubles, estables en suelos y no se oxidan con facilidad a compuestos más fácilmente asimilados por las plantas (380).

Los niveles de selenio en el aire y el al agua suelen ser muy bajos, del orden de 10 ng/m^3 en el aire y de pocos microgramos por litro de agua (380).

Los principales usos del selenio son la fabricación de corriente y células fotoeléctricas, las aleaciones con el acero para aumentar su resistencia a la corrosión, la fabricación de

pinturas y barnices, la vulcanización del caucho y catalizador en la industria química (190).

La alimentación constituye la principal ruta de exposición del selenio en la población general (380). Debido a las diferencias geoquímicas, la exposición a selenio vía alimentación varía desde 11 a 500 $\mu\text{g}/\text{día}$, aunque normalmente se encuentra entre 20 y 300 $\mu\text{g}/\text{día}$ (380). El contenido del Se en los alimentos va a depender, principalmente, de su concentración y forma química en el suelo (513). Por otra parte, el aporte dietético variará con la selección alimentarla individual, criterios culturales y económicos (513).

Los productos de origen animal ricos en proteínas (carnes y pescados), suelen ser buenas fuentes de Se en forma de seleno-aminoácidos. En los productos de origen vegetal, varía directamente en función del contenido del suelo, aunque en general, los cereales, junto al champiñón y ajo, constituyen las fuentes adecuadas. Sin embargo, las frutas y verduras, a excepción de los espárragos, no son especialmente ricos en Se (513). Excepto los riñones, hay pocos alimentos en Europa que constituyan una buena fuente de selenio, siendo el marisco, el hígado y el pescado fuentes moderadamente buenas (421).

La exposición ocupacional es mayoritariamente aérea, la vía dérmica tiene escasa importancia a no ser que no exista integridad de la piel (380). El selenio puede liberarse a la atmósfera durante el refinado del cobre y durante la purificación del selenio (380).

El selenio es un elemento esencial para los mamíferos, incluido el hombre, por formar parte de numerosas enzimas: glutathion peroxidasa (GPx), iodotironina-5'-desiodinasa, etc (471). De todos los elementos ultratraza, quizás sea el Se al que se le ha adjudicado un papel más importante en la nutrición humana y en diversas patologías. Es un nutriente esencial que actúa como factor antioxidante, formando parte del sistema glutathion-peroxidasa, siendo necesario para mantener la integridad de las membranas celulares frente a la acción lesiva de los radicales libres (513).

La ingesta de Se/día adecuada en un adulto debe oscilar entre 50-200 $\mu\text{g}/\text{día}$ o un mínimo requerimiento diario de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso/día (513). Con estas cantidades, se

aseguran unas concentraciones plasmáticas entre 0,7-3,0 $\mu\text{g/L}$ y un pool corporal de 20 mg (para un adulto de 70 Kg) (513). La ingesta de referencia en el Reino Unido para maximizar la actividad de la GPx, que ocurre a una concentración de selenio en plasma de aproximadamente 95 (89-114) $\mu\text{g/L}$ (122), es de 75 $\mu\text{g/día}$ (421). El aporte dietético recomendado (ADR) en EE.UU. es de 55 $\mu\text{g/día}$ tanto para hombres como mujeres (393) (421). El valor aceptado como límite superior de seguridad, para evitar su toxicidad, en la ingesta alimentaria de selenio, es de 0,4 mg/día (384) (393). La agencia para la protección del medioambiente (EPA) indica una dosis de referencia (RfD) de 0,005 mg/Kg/día, que se define como aquella cuyo consumo durante toda la vida probablemente no provoca efectos adversos crónicos no cancerígenos (530). En general, concentraciones de selenio en los alimentos de 5 a 10 mg/Kg son consideradas tóxicas (396).

Aún cubriendo las necesidades diarias, existen una serie de factores que van a influir en su biodisponibilidad, como son (287):

1. Digestibilidad de las proteínas a las que va ligado el Se; así, el Se, unido a la metionina presenta mejor biodisponibilidad.
2. Forma química.
3. Presencia o ausencia de otros factores que pueden aumentar (niveles adecuados de vitaminas A, C y E) o disminuir su utilización (bajos niveles de metionina, proteínas totales, vitamina E y complejo B

No es frecuente que se produzca una deficiencia suficientemente severa para comprometer el estado físico, especialmente en países occidentales (513). Sin embargo, sí son interesantes las circunstancias que van a predisponer a un déficit de Se, especialmente desde el punto de vista diagnóstico (224). La baja concentración en los suelos de ciertas zonas de China, provoca dos clases de manifestaciones de la deficiencia endémica de selenio: síndrome de Keshan, una cardiomiopatía frecuente en niños y mujeres, y la enfermedad de Kashin-Beck, una osteoartropatía que afecta a los niños (471).

La deficiencia de selenio ha sido estudiada en relación a un considerable número de enfermedades (471). Estudios oncológicos en experimentación animal e investigaciones epidemiológicas, indican que podría constituir un factor dietético con acción protectora frente a la carcinogénesis (224) aunque el papel protector del mismo en la prevención del cáncer es objeto de intensos debates y estudios epidemiológicos (88) y existen indicios de que esa acción puede ser más farmacológica que esencial (463). Se considera al selenio como un factor de protección frente al stress oxidativo (421), con especial importancia en cardiopatías (390), recomendándose la administración de suplementos de selenio (344), y el metabolismo de fármacos (287). Ciertas investigaciones especulan sobre los efectos antiinflamatorios y antivirales (364). Según Rayman, en 2000, además de comportarse como un agente antiinflamatorio y ser un factor esencial en la fertilidad masculina, la deficiencia de selenio se encuentra ligada a la incidencia y virulencia de algunas infecciones virales (421).

La intoxicación con selenio en el ser humano es poco habitual, pero puede llegar a ser grave (471). Han sido publicados casos en los que ha existido toxicidad debida a la ingestión de soluciones concentradas (291) y suplementos incorrectamente formulados (89). La selenosis clásica se manifiesta como un trastorno gastrointestinal, con vómitos y diarrea, aliento a ajo, pérdida de pelo y uñas, y lesiones dermatológicas y en casos extremos, daño neurológico (471). Puede provocar toxicidad a los trabajadores de la industria de refinado del cobre ya que se hayan expuestos al selenio y sus derivados al ser éste un subproducto de la citada industria (190).

En la toma de muestras, la contaminación no es normalmente un problema (101), por lo que se pueden utilizar envases convencionales (471). Tanto la heparina como el EDTA son apropiados como anticoagulantes si se requiere analizar sangre total (289). Es importante evitar la hemólisis en el caso de plasma o suero puesto que incrementaría de forma importante el contenido de selenio y de hierro, haciendo las muestras no apropiadas para el análisis (471). Las muestras deben ser refrigeradas a 4°C (471). Según Lloyd y colaboradores, en 1982, las muestras pueden ser almacenadas hasta 8 días refrigeradas a 2°C (289). En sangre total, Mestek et al, en 1997, encuentran una pérdida de un 9% de selenio al quinto día de almacenamiento a 4°C (325). En general, la IUPAC recomienda una temperatura de almacenamiento inferior a 5 °C para cortos periodos y – 20°C para largos periodos (101). Según Sabé et al, en 2000, la muestra de suero es

estable dos días a 4°C y un año a -20°C (442). Repetidas congelaciones y descongelaciones pueden desnaturalizar las proteínas lo que podría afectar a los resultados analíticos (471).

Hace 50 años, el análisis de selenio en tejidos humanos y fluidos biológicos se basaba en técnicas clásicas como la iodometría que requería un volumen de muestra muy elevado (471). El desarrollo, en los años 60, de métodos colorimétricos y los primeros fluorimétricos, hicieron más practicables los análisis en sangre y suero (471). En la mitad de la década de los 80, la espectrometría de fluorescencia molecular había sido asociada a la generación de hidruros y horno de grafito de la espectrometría de absorción atómica convirtiéndose en los métodos más utilizados en el análisis de especímenes biológicos (471). Sin embargo, aunque la determinación de selenio con generación de hidruros es casi tan sensible como la ETAAS, la primera requiere una digestión de la muestra y una reducción del selenio (VI) a selenio (IV), que la hace bastante lenta (558). Actualmente, la técnica de elección es la espectrometría de absorción atómica con horno de grafito (471).

Dada la alta volatilidad del selenio y sus compuestos, en presencia de matrices complejas es importante añadir un modificador de matriz que estabilice el selenio para posibilitar que la temperatura de la fase de pirólisis de la rampa de temperaturas sea lo más alta posible. De esta forma, se intenta eliminar toda la matriz sin pérdida de selenio (298).

La mayor parte de los métodos para el análisis del selenio utilizaban níquel como modificador (471), aunque se han utilizado una gran variedad de modificadores con cobre, plata, níquel-platino, níquel-magnesio, níquel-paladio, iridio-magnesio, etc. Actualmente, los modificadores con níquel han sido casi totalmente sustituidos por modificadores de matriz a partir de paladio (471). El paladio ofrece una alta sensibilidad, menos interferencias y puede mezclarse con el plasma sin precipitación de proteínas (471). Sabé et al, en 1999, comparan los diversos modificadores habitualmente utilizados en la determinación de selenio concluyendo que el paladio sólo y el iridio son los que ofrecen mejores resultados (443). La eficiencia del modificador depende de la especie química de selenio (442).

La forma en la cual el paladio es añadido es controvertida. Existen partidarios de un paladio sólo (166), una mezcla de paladio con magnesio (459) o una solución con un reductor como ácido ascórbico o clorhidrato de hidroxilamina.

Las interferencias espectrales más importantes en la determinación de selenio son debidas al hierro y el fósforo (fosfatos) (442) siendo la corrección de fondo por efecto Zeeman el método más eficiente para evitar esta interferencia (varios autores en (442)). Es imprescindible la utilización de la corrección de fondo por efecto Zeeman cuando se determina selenio en sangre total por la interferencia que constituiría la gran cantidad de hierro presente los eritrocitos (117).

El selenio se encuentra en el ser humano en un intervalo de estados de oxidación entre Se(II) y Se(VI), lo que constituye las distintas especies de selenio (453).

Tabla VII.1.- Límites de detección y coeficientes de variación de distintos métodos para la determinación de selenio en suero, orina y sangre por ETAAS y corrector de fondo Zeeman.

Espécimen	Modificador	LD ($\mu\text{g/L}$)	CV (%)	Referencia
Suero	Triton X-100/ HNO_3 + Cu-Fe	10	2,5	(561) Welz 1983
Suero	Triton X-100+ $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$	5,2	4,9	(95) Clavel 1983
Suero	Triton X-100+ $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$	2	5	(143) Ericson 1986
Suero	Triton X-100+ $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$	8	9,6	(394) Paschal 1986
Suero	Triton X-100+ HNO_3 + Cu-Mg	5	7	(345) Neve 1986
Suero	Triton X-100+ HNO_3 + Ni-Ag-Cu-Mg	8,1	2,9	(339) Morisi 1988
Suero	Triton X-100+ Pd	6	2,2	(166) Gardiner 1995
Suero	Triton X-100+ $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$	3,9	3	(81) Chappuis 1995
Suero	Triton X-100+ HNO_3 + Pd-Mg	2,8		(577) Yen 1997
Suero	Triton X-100+ Pd-Mg	2	1,6	(154) Feuerstein
Suero	Triton X-100 + Pd	2,6	2,2	(442) Sabé 2000
Sangre y suero	Triton X-100 + Pd	3,4	4,5	(334) Montel 2002
Sangre	Triton X-100+ Pd-Ni	1,1		(126) Eckerlin 1987
Sangre	Pd-Ac. Ascórbico		5,9	(406) Pohl 1987
Orina	$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ + HNO_3	9		(71) Carnrick 1983
Orina	Pd+ $(\text{NH}_4)\text{NO}_3$	10		(239) Kao 1993
Orina	Pd+Mg+Ni	9		(120) Drake 1994
Sangre y orina	Triton X-100+Pd+ H_2O_2	4,5	4	(70) Campillo 2000

Los compuestos solubles de selenio se absorben fácilmente por los pulmones y el tubo gastrointestinal (190). La absorción, que se realiza a nivel del duodeno y yeyuno proximal, va a ser más eficaz respecto a las compuestos orgánicos, oscilando en una

proporción del 50-80% del Se ingerido (513). A diferencia del hierro y el zinc cuya homeostasis regula la absorción, el estado de selenio en el organismo no parece afectar a la absorción intestinal (468). Los metales pesados As, Cd y Hg disminuyen la absorción de selenio y viceversa (468). Las vitaminas A, C y E aumentan la absorción intestinal de selenio, mientras que la vitamina B₆ y la riboflavina no afectan a la absorción pero sí a su incorporación a la glutatión peroxidasa (468).

Tras su paso intestinal, puede seguir 2 rutas metabólicas (Figura VII. 1):

- a) El Se unido aminoácidos, principalmente selenometionina, pasa directamente a otros tejidos (con preferencia al músculo, 50% de la carga corporal total de selenio (391)), para participar en la síntesis proteica. La selenometionina no necesaria para esta función, seguirá la ruta b.
- b) Tanto el Se orgánico (con preferencia la selenocisteína) como las formas inorgánicas, son transportadas en el plasma ligadas a lipoproteínas VLDL y LDL, siendo recaptadas inmediatamente por el hígado y eritrocitos. Tras ser metabolizado, el Se es devuelto al plasma ligado a un "carrier" todavía no bien conocido, aunque se cree que podría ser una alfa o beta 2 globulina (513).

En el hígado y eritrocitos va a sufrir su metabolización, entendiéndose como tal, un cambio en la forma química. Tanto el Se orgánico, como el inorgánico, es reducido vía enzimática (a través de la glutatión-reductasa), y no enzimática para formar el anión seleniuro (HSe⁻), que es la forma biológicamente activa de Se (513).

El seleniuro, ligado a un "carrier", se distribuye a los tejidos de depósito, principalmente hígado, bazo y corazón, entrando a formar parte de un pool tisular o bien del sistema antioxidante de la GPx. (513). La mayor concentración de selenio en el organismo tiene el siguiente orden: hígado, hipófisis, riñón, tiroides, glándulas suprarrenales y testículos, aunque la mayor cantidad total de selenio se encuentra en los músculos, aproximadamente la mitad del contenido total (543), por ser el tejido más abundante (468). El selenio sanguíneo, que representa alrededor del 3% del contenido total, se distribuye en plasma, eritrocitos y leucocitos (543). La mayor parte del selenio eritrocitario se encuentra unido a la hemoglobina y una pequeña parte a la GPx (543).

El Seleniuro, que no ha entrado a formar parte de las funciones metabólicas mencionadas, es catabolizado por el sistema de las metil-transferasas a dimetil-seleniuro $[\text{Se}(\text{CH}_3)^{+2}]$ e ion trimetil-selenio $[\text{Se}(\text{CH}_3)^{+3}]$. Ambas formas son excretadas principalmente por la orina (55%-60%), actuando el riñón como un regulador de la homeostasis del metal (513).

Otras vías de eliminación, de menor cuantía, son el sudor ($< 5\%$) y la respiración ($<1\%$) para el dimetil-seleniuro y las heces ($<10\%$) para el ion trimetil-selenio (287)

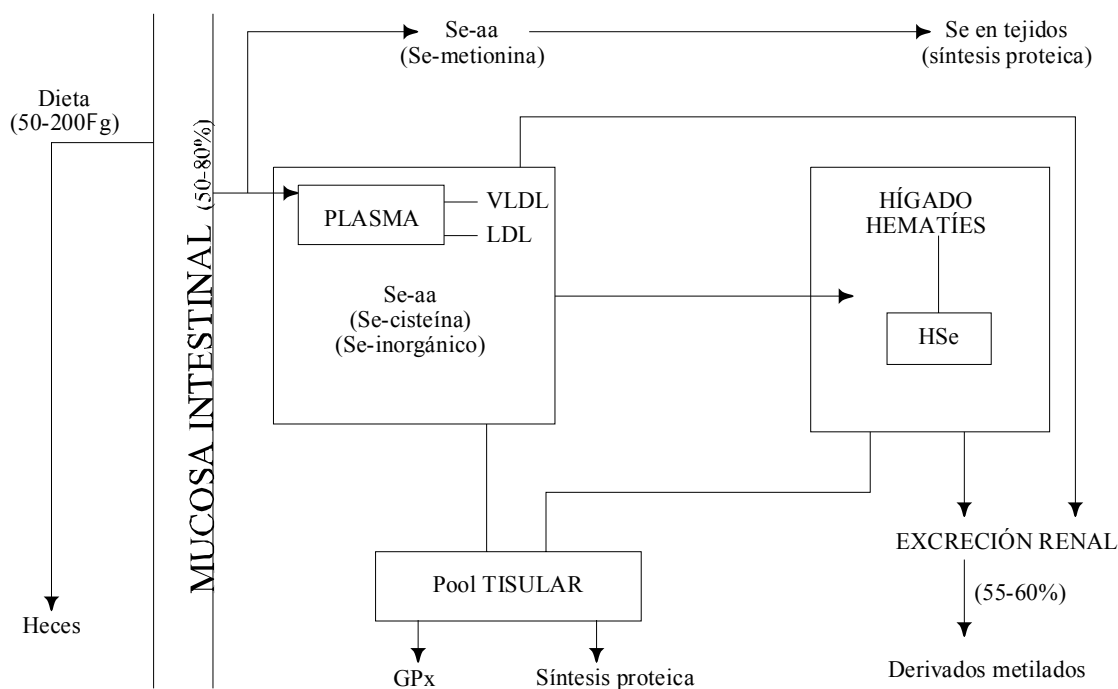


Figura VII.2.- Metabolismo del Selenio. Tomado de Tato Rocha et al, 1994. *Anales de Medicina Interna* 1994 [123]

Este peculiar metabolismo del Se, parece indicar que las diferentes formas químicas del metal pueden influir en su mecanismo de acción, requerimientos nutricionales, toxicidad y prevención del cáncer (224)

Mejor que ningún otro elemento traza, el selenio representa la dicotomía toxicidad y esencialidad. En los últimos 50 años el selenio ha pasado a ser un elemento tóxico, en los años 30, un cancerígeno, en los años 40, un elemento esencial, en los años 50, y un anticancerígeno, en los años 60 y 70 (284).

Una deficiencia de Se originará un descenso en la actividad GPx. La GPx forma parte de sistemas antioxidantes orgánicos junto con la catalasa, superóxido dismutasa, vitamina E, vitamina C, carotenoides etc., cuya función es eliminar los radicales libres del oxígeno tales como el peróxido de hidrógeno, hidroperóxidos orgánicos, superóxidos y radicales hidroxilo (347).

La participación del Se en la GPx es sinérgica con la vitamina E y consecuentemente, la deficiencia de cualquier nutriente puede crear requerimientos adicionales para el otro (513).

La distribución de la GPx en los tejidos es muy heterogénea, presentando mayor actividad en hígado (citósol y mitocondrias de la célula hepática) y hematíes (347).

Tejidos particularmente vulnerables al estrés oxidativo serán aquellos que mantienen una gran actividad metabólica como el hígado, corazón, diafragma y músculo esquelético. Esto explica que se produzca déficit de Se en situaciones tales como hemólisis, necrosis hepática, degeneración pancreática, cataratas, disminución de respuesta inmune e inflamatoria y modificación tóxica de agentes químicos (347).

De todo esto se deriva la importancia del Se para prevenir el daño celular, ya que un déficit de la actividad GPx no puede ser totalmente compensado con otros sistemas antioxidantes, no dependientes del Se. Otros enzimas activos en la detoxificación (catalasa, glutatión-S-transferasa etc.) no compiten realmente con la actividad GPx, ya que tienen distinta localización celular. Además, son inefectivos en la reducción de hidroperóxidos, bien sean orgánicos (como es el caso de la catalasa), o inorgánicos (como ocurre con la glutatión-S-transferasa) (184).

El Se también puede interaccionar en el organismo con una serie de metales tóxicos (As, Cd, Hg, Cu, Ag, Pb, etc.), impidiendo el daño de éstos en diferentes tejidos (513), efecto que puede reducir la biodisponibilidad del selenio (421). Se han propuesto tres mecanismos de actuación: (513).

1. Formación de complejos insolubles y estables con estos metales.
2. Unión a proteínas de bajo peso molecular y junto al metal, formar proteínas de gran tamaño que no atraviesen la membrana celular.
3. Interfiriendo en el metabolismo de dichos metales (190).

Parizek y Ostadalova, en 1967, fueron los primeros que mostraron que el selenio podía tener un efecto protector sobre la toxicidad aguda de mercurio, lo que indujo a pensar que el selenio podría tener un efecto protector en el organismo frente a ciertos metales tóxicos (380). Así, Lindh et al, en 1996, tras realizar un estudio en ratas, afirman que el selenio ejerce un efecto protector sobre la toxicidad de mercurio y cadmio aunque por un mecanismo todavía desconocido (284). Sin la necesidad de suplementos de selenio, el selenio procedente de la alimentación es capaz de reducir la toxicidad crónica del metilmercurio (161). La posible interacción metabólica del selenio y el mercurio ha sido puesta de manifiesto por Kosta et al, en 1975, con el estudio de tejidos humanos con posterioridad a una exposición a mercurio inorgánico (253). El mecanismo por el cual el selenio ejerce una cierta protección contra la toxicidad del mercurio es desconocido (384), pero el hecho de que la vitamina E y otros antioxidantes tengan el mismo efecto protector ha planteado la hipótesis de que actúan sobre los radicales libres producidos en la acción del mercurio (162).

El selenio administrado parenteralmente protege de la toxicidad provocada por una administración parenteral de cadmio en ratas pero no de la toxicidad provocada por el cadmio cuando se administra por vía oral (563). El antagonismo cadmio-selenio puede ser importante en la salud humana al prevenir el selenio la hipertensión causada por una exposición prolongada de cadmio en ratas (Perry et al, 1976). revista imposible En (380).

El selenio interacciona también con el plomo aunque parece tener un efecto inferior al que se ejerce sobre el mercurio o cadmio (380).

El Selenio, y su determinación en muestras biológicas, puede ser clínicamente importante en situaciones de excesiva o deficiente ingesta (471). De mayor relevancia, como se comprueba en la práctica clínica actual, es el seguimiento de selenio en pacientes a los que se les considera proclives a padecer una deficiencia de este elemento como consecuencia de una enfermedad o una terapia (471).

La investigación de la toxicidad de selenio puede ser llevada a cabo mediante el análisis de selenio en los fluidos corporales (471). La orina, la sangre total y el cabello han sido utilizados en la selenosis endémica (575); plasma y orina en casos de intoxicación aguda (291) y tejidos en los casos mortales (458). La orina es el espécimen de primera elección para la monitorización del selenio ocupacional, realizándose el análisis de suero o plasma si la excreción es elevada (471).

La valoración del status nutricional de Se en el hombre se realiza a partir de dos marcadores biológicos:

- a) Determinación de la concentración del metal en medios biológicos.
- b) Medición de la actividad eritrocitaria de la enzima glutatión-peroxidasa-selenio-dependiente (SeGSHPx) (347).

La matriz biológica más apropiada para monitorizar la deficiencia varía dependiendo de la naturaleza de la investigación (471). Las uñas y el pelo han sido utilizados en estudios epidemiológicos como indicadores a largo plazo en el cáncer y en el síndrome de Keshan, respectivamente (471). La utilización de cabello requiere un cuidado especial, particularmente en países en los que el selenio puede ser un ingrediente de champús (471). Aunque no es el espécimen habitual para la determinación del estado nutricional de selenio (523), existe una fuerte correlación entre la ingesta y la excreción urinaria (391) (454). En estados deficitarios, la eliminación de selenio en orina se ve muy disminuida dado el mecanismo de homeostasis que procura su conservación, lo que convierte este parámetro en un buen indicador (468). Para Sanz Alaejos y Díaz Romero, en 1993, el selenio urinario es un indicador biológico de una deficiencia de selenio más adecuado que el sérico (454) aunque para Sheehan y Halls, en 1999, es un índice poco sensible y la determinación de selenio en orina más difícil que la sérica (471).

La mayoría de los estudios publicados utilizan eritrocitos, sangre total o plasma (o suero), como indicadores a corto y medio plazo de la ingesta (471). El selenio eritrocitario presenta buenas correlaciones con las concentraciones plasmáticas y es un buen índice para conocer el estatus de selenio a largo plazo, debido a la larga vida del hematíe, 120 días (543) y de las selenoproteínas que contiene (513). Aunque la concentración de selenio en los glóbulos rojos se encuentran menos sujetas a variaciones transitorias, generalmente los niveles de selenio en eritrocitos correlacionan con los niveles de selenio sérico lo que hace innecesaria su determinación (543). La actual monitorización clínica se centra en cambios de la ingesta a corto plazo y la mayor parte de las muestras son de plasma (o suero) (471). De alguna manera esto puede ser consecuencia del hecho de que el análisis de sangre total y eritrocitos es técnicamente más difícil (471).

Teniendo en cuenta que la Glutation Peroxidasa (GPx) es la única forma metabólicamente funcional del Se, esta magnitud parece aportar una información más adecuada del status nutricional que la medición del contenido total del mismo (513). Ello es debido a que esta última determinación no hace distinción entre las formas funcionales y no funcionales del elemento (184). El encima plasmático refleja cambios recientes en la ingesta de selenio mientras que el eritrocitario suministra una información de mayor duración (98). El selenio sérico constituye un indicador útil en los países europeos donde las concentraciones de selenio no saturan la actividad de la GPx (421).

Ambas magnitudes descenderán con un aporte insuficiente de Se, ya que presentan una buena correlación en respuesta a cambios en el aporte dietético (513).

La actividad de la glutatión peroxidasa y el selenio plasmático se encuentran correlacionadas cuando las concentraciones de selenio no son elevadas y saturan los sitios de la glutatión peroxidasa (421). Ello indica que si las concentraciones de Se sobrepasan el umbral establecido por la SeGSHPx, se producirá un estado de toxicidad (513).

En cualquier caso, la interpretación de los resultados debería basarse en intervalos de referencia de la misma localidad y se deberían tener en cuenta los valores pediátricos (471).

Tabla VII.2.- Comparación de los niveles de selenio en sangre en diferentes países del mundo. Datos tomados de (385) OMS. Environmental Health Criteria 58: Selenium. Geneva, World Health Organisation (1987), a los que se añaden los valores encontrados por otros autores.

País	Concentración media de selenio en sangre	
	($\mu\text{g/L}$)	($\mu\text{mol/L}$)
China (Área de alto contenido en Se)	3200	40,53
China (Área de contenido medio de Se)	95	1,20
China (Área de bajo contenido en Se)	27	0,34
Egipto	68	0,86
Finlandia (Helsinki)	81	1,03
Suecia	120	1,52
Reino Unido	320	4,05
Reino Unido (565)	102 (62-142)	1,29
Guatemala	230	2,91
República Checa (75)	53	0,68
Suecia (27)	110 (65-160)	1,39
Dinamarca (180)	103 (81-134)	1,31
Bélgica (537)	123 (82-178)	1,56
España, Madrid (hombres) (334)	113	1,43
España, Madrid (mujeres) (334)	126	1,60
España, Valencia (18)	93 (67-119)	1,18
España, Badajoz (337)	118	1,49

Lauwerys indica como valores normales de selenio en suero los comprendidos entre 40 y 100 $\mu\text{g/L}$ (269). En España, Alegría et al, en una población sana procedente de la provincia de Valencia, encuentran como valor medio de selenio en suero 81 $\mu\text{g/L}$, con un intervalo desde 53 a 109 $\mu\text{g/L}$ (18), Sabé et al, en personas de la provincia de Barcelona, encuentran un valor medio de 66 $\mu\text{g/L}$ con un intervalo entre 39 y 111 $\mu\text{g/L}$, sin diferencias significativas por razón de sexo (442), y Navarro Alarcón et al, en personas de la provincia de Granada, encuentran un valor medio de 75 $\mu\text{g/L}$ con un intervalo de 30 a 175 $\mu\text{g/L}$ (344). Estos valores son similares a los encontrados en otros países europeos, pero marcadamente inferiores a los que se encuentran en EE.UU (421). En la Tabla VII.2 se indican las concentraciones medias de selenio en sangre encontradas en diferentes países y recogidos por la OMS en su informe de salud medioambiental número 58 de 1987.

La concentración de selenio en orina de personas sin deficiencia de selenio ni problemas de toxicidad varía entre 20 y 200 $\mu\text{g}/\text{día}$ (454). Drake y Hain, en 1994, observan una concentración media de 31 μg de selenio en orina de 24 horas en 28 sujetos sanos en San Angelo, Texas, EE.UU. (120). Para Lauwerys, una concentración normal de selenio en orina debe estar por debajo de 25 $\mu\text{g}/\text{g}$ de creatinina (269).

Los trabajadores expuestos a metales pesados tienen concentraciones urinarias de selenio más elevadas y los enfermos de cáncer más bajas (454).

VIII.- ZINC

El zinc es un metal del grupo IIB del sistema periódico, de color blancoazulado y brillo intenso, de estructura laminar y bastante blando a temperaturas elevadas (100-150°C). Se presenta sólo en estado de oxidación (II). Su peso atómico es 65,37. Tiene una densidad de 7,14, funde a 419,5°C y hierve a 908°C. En ambiente seco permanece inalterable, pero el aire húmedo lo oxida, recubriéndolo de una película que protege la masa interior. Es atacado por los ácidos diluidos y los álcalis fuertes (164).

Los minerales de zinc ya se utilizaban en la antigüedad para preparar latón, pero el zinc metal no fue conocido hasta unos siglos más tarde en China, de donde pasó a Europa en la Edad Media. Al parecer, fue Paracelso, en el siglo XVI, el primer europeo que lo reconoció como elemento metálico llamándolo zinkum. El metal puro lo obtuvo Marggraf, a mediados del siglo XVIII, tratando la calamina con carbón (164). Se probó su esencialidad en animales en 1934. Debido a su ubicuidad, su deficiencia se consideró improbable hasta 1955 cuando se demostró que swine parakeratosis era una deficiencia de zinc (244).

El zinc es muy abundante en la naturaleza, ya que constituye el 0,02% de la corteza terrestre. El principal mineral de zinc es la esfalerita o blenda (ZnS). Otros minerales de zinc importantes son la cincita (ZnO), la esmitsonita (ZnCO_3), la willemita (Zn_2SiO_4) y la franklita, mezcla de óxidos de zinc, hierro y magnesio (164).

Entre los muchos y muy diversos usos del zinc y sus compuestos destacan (258):

- Zinc metálico en la fabricación de aleaciones: latón (aleación de Cu-Zn), bronce y plata alemana; y en la galvanización del hierro y otros metales.

- Óxido de zinc como pigmento y sustancia de carga en plásticos y gomas, pigmento blanco en alimentos, pinturas, cremas y pegamentos y fotoconductor en fotocopiadoras
- El sulfato y el cromato como pigmento blanco para pinturas y plásticos
- En dermatología, el piritionato de zinc se emplea como antiseborreico.

Es un elemento esencial para la vida que cuenta con mecanismos eficientes de regulación homeostática (258). Es esencial para la actividad de aproximadamente 70 enzimas (444) entre las que cabe destacar la anhidrasa carbónica de los eritrocitos, la fosfatasa alcalina y muchas enzimas que participan en la síntesis del RNA y DNA (RNA polimerasas) (86). La deficiencia de Zn se caracteriza por la presencia de dermatitis, retardo en el crecimiento, atrofia genital, depresión del sistema inmune, proceso de cicatrización de heridas más lento y alteraciones del gusto y olfato (410). Produce otros síntomas como diarreas, alopecia, disminución del apetito y modificación de la conducta (386). El zinc es esencial para el desarrollo embriológico normal, el déficit conduce a malformaciones cerebrales, oculares, óseas, cardíacas y de otros órganos (146). Los efectos de una disminución moderada de zinc, son poco evidentes, pudiendo pasar desapercibidos, no obstante las manifestaciones más evidentes en estos casos son el crecimiento ralentizado e infecciones frecuentes (386). Las principales manifestaciones clínicas del estado carencial de zinc son daños en la piel (paraqueratosis, queratitis, piel rugosa e hiperpigmentada), alopecia, curación de heridas dificultosa, anorexia, afectación de los sentidos, retraso del crecimiento, daños en el desarrollo y función de los órganos reproductores masculinos e inmunodeficiencias (150). También hay indicios de que la deficiencia de zinc durante el embarazo es teratogénica en humanos como lo es claramente en animales (108).

Existen grupos poblacionales más susceptibles de desarrollar una deficiencia. Tal es el caso de los ancianos debido a la ingesta inadecuada y a la deficiente absorción intestinal propia de la edad (428) y en aquellos estados fisiológicos en los que exista una demanda anabólica elevada tales como el crecimiento (245) y el embarazo (69). En los niños su carencia produce una alta sensibilidad a las infecciones, debido a los efectos que induce sobre el sistema inmunitario (386).

Está reconocida desde hace bastantes años la capacidad del zinc de retardar los procesos oxidativos del organismo, en parte por la inducción de sustancias antioxidantes por sí mismas como la metalotioneína (409). La función de antioxidante indirecto ha sido comprobada con el estudio de ratas con ligera deficiencia de zinc (118), por ser los ligandos de la MT al zinc fácilmente oxidables, pero sin cambio en el estado de oxidación del zinc (310).

El déficit de Zn puede presentarse, como una complicación adicional, asociado a diferentes patologías como son: la enfermedad de Crohn (319), la nutrición parenteral prolongada (373), la insuficiencia renal crónica (309), la cirrosis hepática (290) y, por las pérdidas de zinc que se producen, en grandes quemaduras y alteraciones pancreáticas, intestinales y renales (333). Se han descrito deficiencias de zinc en pacientes con enfermedad de Wilson tratados con penicilamina (146). En la acrodermatitis enterohéptica, un defecto autosómico recesivo, el déficit de zinc puede ser consecuencia de un defecto en la absorción (146). También se ha relacionado la diabetes mellitus con los estados de deficiencia (332), encontrándose incrementados los valores de zinc en los pacientes de diabetes (256).

La concentración de zinc en los alimentos varía desde 0,02 mg/100g para los huevos, pasando por 1 mg/100g en la carne de pollo, hasta 75 mg/100g en las ostras (244). Las principales fuentes alimentarias de zinc son el marisco, la carne vaca, otras carnes rojas y el salvado de los cereales (244). Las fuentes más pobres son el azúcar blanco, los cítricos, los vegetales sin hoja y los tubérculos que, generalmente, contienen menos de 1 µg/g (332). Debe ser recalcado el hecho de que la principal fuente de zinc es la carne al tener un alto contenido en zinc y estar favorecida la absorción por parte de las proteínas de la misma (294). En países donde la dieta procede principalmente de los cereales, la deficiencia moderada de zinc es frecuente (21). Las necesidades diarias de zinc varían con la edad y la fase de crecimiento; son de aproximadamente 0,8 mg/día en el primer mes de vida, de 3 a 10 mg/día entre 1 y 10 años de edad, y de 10 a 15 mg/día en los adultos normales (146). El aporte dietético recomendado (ADR) en los EE.UU. es de 10 mg/día para niños de 1 a 10 años, 12 mg/día para mujeres adultas y 15 mg/día para los adultos varones (115). Durante el embarazo, las necesidades aumentan hasta 20-25 mg/día (146).

Interfiere con la acción tóxica de Cd y Hg, sin que esto sea útil en el tratamiento de esas intoxicaciones (258). Muchos estudios muestran que un incremento en la ingesta de zinc reduce la absorción y la acumulación de cadmio y previene o reduce los efectos adversos del cadmio, mientras que una deficiencia de zinc puede intensificar la acumulación y toxicidad de cadmio (62).

La absorción depende enormemente de la presencia de sustancias que alteren la solubilidad del zinc en el lugar de la absorción (244). La absorción se realiza por medio de dos mecanismos de transporte: un mecanismo de transporte específico y saturable, que parece ser el principal, y un mecanismo de difusión pasiva (294). La absorción de zinc en el intestino delgado disminuye en presencia de fibras, fitato, calcio y cobre y aumenta con los aminoácidos, los péptidos, el yodoquinol y otros agentes quelantes (146). Se ha usado la proporción molar fitato/zinc como índice de biodisponibilidad (332) así como el índice $[\text{calcio}]/[\text{fitato}]/[\text{zinc}]$ (294). Los cereales, las leguminosas y los derivados de la semilla de soja son particularmente ricos en fitatos, lo que justifica que la biodisponibilidad del zinc desde los vegetales esté reducida (332). Los taninos, el oxalato, la tiamina y el ácido ascórbico actúan, también, inhibiendo la absorción de zinc (332). Varios metales, como el cobre y el cadmio, compiten por los mismos ligandos en el lugar de absorción (244). Mientras que el zinc puede provocar una deficiencia de cobre, el exceso de cobre no provoca deficiencias de zinc (244). No se observa una disminución en la absorción de zinc cuando aumenta de forma moderada la ingesta de cobre en personas con un aporte apropiado de zinc, aunque todavía no está suficientemente aclarado que no interfiera la absorción de zinc cuando la ingesta de este último sea deficiente (294). Aunque altos niveles de cadmio en la ingesta pueden afectar la distribución de zinc, el cadmio no parece tener un efecto importante en la absorción de zinc (244) (62). Se ha señalado también que cantidades altas de hierro en la dieta inhiben la absorción de zinc (332), el ión ferroso y en menor medida el ión férrico, pero no el grupo hemo, inhiben la absorción de zinc cuando la proporción molar de hierro es dos a tres veces mayor (496). Un incremento en el contenido de selenio da lugar a la disminución de la absorción y de la retención del zinc (213). La variación en la efectividad del proceso de absorción y, sobre todo, un aumento o disminución de la excreción fecal del zinc endógeno componen el mecanismo de regulación homeostática

del zinc (244) (571). Aunque se ha especulado en la participación de la metalotioneína (MT) en la absorción y homeostasis del zinc, los estudios en ratones genéticamente privados de MT indican que la MT no es esencial para dichas funciones, no obstante, no se descarta su participación en las mismas (248). Parece que la MT controla la concentración del zinc de fácil y rápida disposición (310).

El zinc sanguíneo sigue un modelo cinético bicompartimental (554) con una vida media rápida de eliminación de 12, 5 días y una vida media de la constante lenta de disposición de 300 días (244). No hay un órgano o tejido específico de almacenamiento de zinc, en todas las especies estudiadas, una dieta marcadamente deficitaria de zinc se traduce en la aparición rápida de signos de deficiencia de zinc (244), aunque los huesos parecen ser el principal lugar de almacenamiento controlado por la homeostasis de adaptación intestinal del Zn (571).

El cuerpo humano contiene entre 1,5 g de zinc en mujeres y 2,5 g en hombres (244). Las concentraciones de zinc que se encuentran en los distintos órganos y tejidos se relacionan en la Tabla VIII.1.

Tabla VIII.1.- Contenido aproximado de zinc en órganos y tejidos del cuerpo humano. (Tomada de (244) (King y Keen, 1994).

Tejido	Concentración aproximada (µg/g tejido húmedo)	Porcentaje del contenido total en el cuerpo humano
Músculo esquelético	51	57
Hueso	100	29
Piel	32	6
Hígado	58	5
Cerebro	11	1,5
Riñones	55	0,7
Corazón	23	0,4
Pelo	150	0,1
Plasma sanguíneo	1	0,1

En la próstata es donde se alcanzan las mayores concentraciones de este elemento en el organismo, incrementándose su nivel con la edad, descendiendo simultáneamente en los testículos (332).

Casi el 96 % del zinc total del organismo, se encuentra en el interior de las células, mientras que el resto se encuentra en el plasma y líquidos extracelulares (244). En los leucocitos, el contenido de zinc es 25 veces mayor que en los eritrocitos, donde se encuentra en su mayor parte en la anhidrasa carbónica (332). Sin embargo, el zinc de los leucocitos y las plaquetas representa sólo del 1 al 3% del contenido total en la sangre, encontrándose del 83 al 90% en los eritrocitos (543). La concentración plasmática es de alrededor de 100 µg/100mL (146) (12-20 µmol/L) (78-131µg/dL), de los cuales un 60-70% está unido a la albúmina y casi todo el resto se asocia con la α_2 -macroglobulina (146) (332).

La concentración de zinc en suero o plasma no refleja las reducciones en la ingesta de zinc o los cambios en la carga corporal de zinc (244). La determinación de zinc eritrocitario no representa ninguna ventaja sobre la sérica o plasmática (543). La carga corporal de zinc se mantiene durante una deficiencia de zinc y, además, el zinc sérico no disminuye cuando disminuye la ingesta de zinc a no ser que ésta sea severa (244). No existe, por lo tanto, un parámetro biológico que sea un indicador ideal de la deficiencia moderada de zinc (195). El zinc plasmático o sérico, parece constituir una parte de un “pool” lábil de zinc en el cuerpo humano, por lo que cualquier reducción de la carga corporal total de zinc se refleja en una disminución de la concentración plasmática (244) (444). Desafortunadamente, muchos estados metabólicos afectan ese “pool”, como el estrés, las infecciones y estado hormonal entre otros (244). Arcasoy et al, en 2001, mencionan la capacidad de unión a proteínas séricas del zinc, semejante al mismo concepto en hierro, como un parámetro adecuado para detectar una deficiencia moderada, y en especial la relación zinc sérico y la capacidad de unión a proteínas (21).

El zinc plasmático constituye la fuente del metal para las necesidades celulares y sus niveles son bastante constantes, con pequeñas variaciones diurnas (146). Los niveles plasmáticos de zinc disminuyen en el embarazo (332) y con el consumo de anticonceptivos orales, cuando se reducen la ingestión o la absorción y cuando aumentan las pérdidas urinarias (146). También disminuye el zinc plasmático en el infarto de miocardio, las infecciones, las neoplasias malignas, las hepatitis y otras muchas enfermedades (146) (496). Los valores de zinc en enfermos con carcinoma hepático, se encuentran disminuidos tanto a nivel sérico como en tejido hepático,

disminuyendo también los niveles de la enzima superóxido dismutasa, siendo una de las causas de la disminución de actividad enzimática en estos enfermos (282). El zinc plasmático mantiene una buena correlación con diversos parámetros hemáticos como albúmina y hemoglobina (332).

Son compatibles con estados de carencia parcial de zinc aquellos en los que se encuentran concentraciones en plasma inferiores a 50 µg/dL (7,65 µmol/L) (332). La concentración en suero o plasma se encuentra entre los 85 µg/dL (13 µmol/L) y los 122 µg/dL (18 µmol/L) (225), aunque los intervalos de referencia publicados varían desde 50 hasta 150 µg/dL, como se puede observar en la Tabla VIII.2. La concentración en eritrocitos es ocho a diez veces superior a la del plasma (332).

Tabla VIII.2.- *Diferentes intervalos de referencia publicados para la concentración de zinc en suero.*

Referencia	Zn Sérico (µg/dL)	Zn Sérico (µmol/L)
(148) Fauci et al, 1998	75-120	11,5-18,3
(547) Wallach, 1998	70-120	10,7-18,3
(278) Lehmann et al, 1988	50-150	7,6-22,9
(400) Pesce y Kaplan, 1990	65-115	10-17,6

La principal vía de excreción de zinc es la fecal (332), sólo aparecen en orina del 2 al 10 % del zinc absorbido (244). Aproximadamente de 2 a 5 mg de zinc se excretan por heces diariamente (146). La mayor parte del zinc endógeno encontrado en heces procede de la secreción pancreática (244).

La cantidad de zinc normalmente excretada en un día en la orina es pequeña, desde 0,3 mg (4,5 µmol) (332) o 0,4 mg (6 µmol) (22) (244) a 0,6 mg (9 µmol) (22) (244) (332).

Los límites de referencia publicados varían desde 0,15 mg/día (278) (547) hasta 1,0 mg/día (547) o 1,2 mg/día (278). Para Lauwerys el valor normal de zinc en orina corregido con creatinina es de 0,7 mg/g creatinina (269).

Aunque en personas vegetarianas la excreción de zinc en orina es la mitad que en las que llevan una dieta rica en carne (226), la concentración de zinc en orina sólo se ve fuertemente alterada por la ingesta de zinc si ésta es muy baja o muy elevada (244). En condiciones normales, hasta el 95% del zinc filtrado a la orina, es reabsorbido en el túbulo distal de la nefrona. (244).

La cantidad de zinc excretada en la orina se encuentra altamente relacionado con la velocidad de producción de orina y la excreción de creatinina (244). Se produce un aumento del zinc urinario en aquellos procesos patológicos que cursan con intensa destrucción celular e incremento del catabolismo, como aquellos que se producen en quemaduras graves, cirugías mayores u otros procesos traumáticos (244), las neoplasias (332), las infecciones agudas (473) y el infarto agudo de miocardio (171). También el ejercicio aumenta de forma significativa la excreción urinaria de zinc (430).

La administración de agentes quelantes, como el EDTA, también aumenta el zinc urinario (244). También se ha observado un aumento de zinc urinario en pacientes insulín dependientes (342).

El único interés toxicológico del zinc estriba en que es responsable del cuadro denominado Fiebre del fundidor o Fiebre por humos metálicos (341), una neumonía química e inflamación pulmonar severa (332) reversible y nunca de evolución fatal (534). El hombre muestra una tolerancia considerable a ingestas elevadas de zinc (332), se pueden administrar por vía oral durante periodos prolongados grandes cantidades sin que se produzcan efectos secundarios graves (258). Dosis elevadas o repetitivas de sales solubles por vía oral se relacionan con el desarrollo de gastritis y otros trastornos gastrointestinales (258). La sobrecarga orgánica de Zn causa anemia sideroblástica (420) e hipocupremia (479).

El óxido de zinc, responsable de la fiebre por humos de zinc, es prácticamente inabsorbible por vía oral. Por vía respiratoria, los humos del óxido, formados al calentar zinc metálico, se absorben pobremente pero interaccionan con las proteínas de los alveolos, bronquiólos, etc., dando lugar a cuadros clínicos marcados por una pequeña irritación del aparato respiratorio, y un componente inflamatorio variable, dependiente

de una reacción inmune, en la que las proteínas desnaturalizadas actúan de antígenos (258). Este cuadro se produce cuando las partículas de ZnO son menores de 1 micra, lo que ocurra al calentar el metal a temperaturas próxima a los 500°C (258). Parece ser que los leucocitos liberan pirógenos en contacto con el ZnO (258). La fiebre del Zn es típica de los trabajos de soldadura, cortado, fundido o decapado de chapas galvanizadas con zinc (258). Entre 12 y 36 horas después de la exposición se produce un cuadro respiratorio muy llamativo con fiebre (40°C), sensación de malestar, dolores musculares, cefalea, vómitos y, excepcionalmente, confusión mental, alucinaciones y convulsiones (258).

En los casos de ingestión de dosis elevadas de compuestos absorbibles del zinc, se produce a las 3-12 horas un cuadro caracterizado por náuseas intensas con vómitos, dolor epigástrico, diarrea y fiebre (258).

El TLV del óxido de zinc es de 5 mg/m³ para los humos (TLV-STEL 10 mg/m³) y 10 mg/m³ para los polvos (258). La susceptibilidad individual para padecer la fiebre por humos de zinc varía entre los diferentes trabajadores puesto que el cuadro tiene un importante componente inmune (258).

Se debe evitar la contaminación de la muestra, la hemólisis en las muestras de suero y se deben tener en cuenta las variaciones de la concentración de zinc en las muestras biológicas a lo largo del día (101). La sangre y el suero pueden almacenarse a 4 – 10°C durante varias semanas (101).

Las técnicas utilizadas en los laboratorios de análisis clínicos para la determinación de zinc en muestras biológicas son la colorimetría, la espectrometría de absorción atómica y atomización por llama (FAAS), la espectrometría de absorción atómica y atomización electrotérmica (ETEAS) y la ICP-OES (22).

Los métodos de elección para la determinación de zinc en suero y orina son la espectrometría de absorción atómica con atomización por llama, aunque para la realización del perfil mineral de una persona la técnica ICP-OES que presenta la ventaja de ser multielemental (22).

Tabla VIII.2.- *Distintos parámetros analíticos para las diferentes técnicas utilizadas para la determinación de zinc en suero*

Parámetro	Colorimetría	ICP-OES	FAAS	ETAAS
Dilución empleada	1/1	1/5	1/5	1/100
Límite de detección (3 SD del blanco)		0,11 µmol/L (0,72 µg/dL)	0,23 µmol/L (1,5 µg/dL)	µmol/L (0,01µg/dL)
Linealidad	308 µmol/L (2 mg/dL)	200 µmol/L (1371 µg/dL)	150 µmol/L (981 µg/dL)	µmol/L (0,5 µg/dL)
Recuperación	98-103 %	96-102 %		%
Repetibilidad	1,3% con 23 µmol/L (N=10)	0,8% con 25 µmol/L (N=20)	1-4%	2,0%
Precisión intradía				
Reproducibilidad	1,6% con 23 µmol/L (N=10)	4,7% con 25 µmol/L (N=10)	8%	
Precisión interdías				
Referencia	(302) Maffulli et al, 1992	(80) Chappuis et al, 1992	[340] Arnaud, 1995	(510) Tahán et al, 1994

MATERIAL Y MÉTODOS

1.- SUJETOS

El estudio se llevó a cabo en cuatro grupos de trabajadores expuestos a mercurio elemental, auxiliares de odontología, dentistas, laboratorio y clorocaústicas frente a un grupo de personas no expuestas laboralmente, que denominamos grupo Control.

El grupo Control está formado por 186 personas voluntarias, 113 hombres y 73 mujeres, con edades comprendidas entre los 15 y los 84 años, con una edad media de 45 años, una mediana de 44 años y una moda de 35 años, siguiendo la variable edad en el grupo Control una distribución normal (Z de Kolmogorov-Smirnov=0,778, $p=0,58$), de los cuales el 68% eran no fumadores.

Dentro del personal que trabaja en Clínicas Odontológicas se establecen dos grupos dependiendo del tipo de trabajo y, por lo tanto, su contacto con las amalgamas de mercurio. El grupo auxiliares de Odontología está formado por 22 mujeres y 2 hombres con edades comprendidas entre los 24 y 58 años, una edad media de 44 años y una mediana de 43 años. El grupo Dentistas se encuentra formado por 15 hombres y 15 mujeres con edades comprendidas entre los 24 y 51 años, una edad media de 37 años y una mediana de 41 años.

El grupo Laboratorio se compone de 7 hombres y 7 mujeres que trabajan en un laboratorio donde se analiza mercurio habitualmente, con edades comprendidas entre los 23 y los 51 años, una edad media de 30 años y una mediana de 28 años.

El grupo Clorocaústicas se encuentra formado por 54 trabajadores, todos hombres, de fábricas que utilizan un electrodo de mercurio para la obtención de cloro por electrolisis de ClNa , con edades comprendidas entre los 22 y 62 años, una media de 48 años y una mediana de 50 años.

A todas las personas se les entrega un cuestionario que se reproduce en las figuras 1 y 2, en las que previa explicación del estudio, se pide su colaboración que se les indica será anónima y confidencial. En el cuestionario se estudian las variables edad, talla, peso, hábito de fumar y frecuencia, frecuencia en el consumo de pescado, número de empastes de amalgama y se les pregunta por si tienen alguna enfermedad que pudiera alterar los resultados de este estudio. En cualquier caso, no se tienen en cuenta aquellos resultados con valores de creatinina y urea séricos por encima de los valores de referencia, para descartar aquellos con una función renal alterada.

Puesto que es difícil cuantificar el consumo de pescado (308), se les intenta distribuir según su frecuencia en el consumo de pescado con un criterio similar al utilizado por Hongo et al, en 1994: mayor o igual a 1 vez al día, 3-4 veces a la semana, 1 vez a la semana, 1 vez al mes, nunca (210). Brune et al en 1991, utilizan la misma configuración de grupos de consumo de pescado que el utilizado en este estudio: Nada, 1 a 2 veces a la semana, 3 a 4 veces a la semana, 5 a 6 veces a la semana, Más de 6 veces a la semana (59).



INSTITUTO DE MEDICINA PREVENTIVA
DEL E.T. "Capitán Médico Ramón y Cajal"



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE
MADRID. Facultad de Farmacia

Número _____ Fecha _____

Observaciones _____

Edad..... Peso..... Talla.....

¿Padece alguna enfermedad? ¿Cuál?.....

.....

(Marque con una < lo que corresponda)

Sexo: Varón.. 9 Hembra.. 9

Fumador: No.. 9 Si.. 9

Número de cigarrillos diarios:

1-10.. 9 11-20.. 9 21-30.. 9 31-40.. 9 Más de 40.. 9

¿Cuántos empastes metálicos (amalgamas) tiene?:

0.. 9 1-5.. 9 6-10.. 9 11-15.. 9 16-20.. 9 Más de 20.. 9

Le han puesto o quitado algún empaste metálico (amalgama) en los últimos 30 días:

No.. 9 Si.. 9

Consumo de pescado (veces a la semana):

0.. 9 1-2.. 9 3-4.. 9 5-6.. 9 Más de 6.. 9

¿Tiene algún contacto con el mercurio o sus derivados por motivos laborales?

No.. 9 Si.. 9

¿Con qué frecuencia se haya expuesto al mercurio?

Una vez al mes.. 9 2-3 veces al mes.. 9 Una vez a la semana.. 9

2-3 veces semana.. 9 4-5 veces semana.. 9 Menos de una vez al mes .. 9

Figura 1.- Encuesta utilizada en el presente estudio



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
Facultad de Farmacia

ENCUESTA

Quisiéramos pedir su colaboración.

Estamos trabajando en un estudio de metales en sangre y orina que servirá para elaborar una tesis profesional.

Rogamos conteste a unas preguntas que no le llevarán mucho tiempo. Las respuestas deben ser hechas con la mayor sinceridad posible. Por favor, no deje ninguna en blanco.

Sus respuestas son confidenciales y completamente **anónimas**.

Muchas gracias por su colaboración

Figura 2.- Presentación de la encuesta utilizada en el presente estudio

2.- TOMA DE MUESTRAS

Las muestras de sangre y suero se obtienen por venopunción, utilizándose tubos de extracción a vacío Venoject®. Para la obtención de suero se utilizan los tubos con gel de silicona separador del coágulo modelo VT-109SAS de 9mL. Para la obtención de sangre se utilizan tubos con heparina de litio de 5 mL modelo VT-050SHL.

Las muestras de orina son aquellas de la primera de la mañana, con el objeto de unificar horario e impedir ritmos circadianos así como de obtener aquella con menor factor de dilución. Para corregir los efectos del flujo de orina o dilución de la misma se corrigen los valores obtenidos por la concentración de creatinina en orina tal y como recomienda el INSHT (219). Se rechazan aquellas muestras de orina muy diluidas (creatinina inferior a 0,5 g/L) y las muy concentradas (creatinina superior a 3 g/L), de acuerdo a lo recomendado (219), puesto que cuando se producen velocidades de producción de orina altas o bajas la correlación del parámetro referido a creatinina y el parámetro referido a orina de 24 horas disminuye y, por lo tanto, también con concentraciones extremas de creatinina (68).

Los tubos con gel separador del coágulo son centrifugados a 2500 rpm durante 9 minutos antes de que transcurran 2 horas desde su extracción y el suero se separa en tubos de polietileno. Las sangres se mezclan bien en el momento de la extracción para evitar la formación de coágulos.

Las orinas son separadas en dos tubos de polietileno. A uno de ellos se le añade un 1% de ácido nítrico suprapur para mejorar su conservación. El otro tubo, al que no se le añade conservante, se utiliza para aquellas determinaciones como la creatinina, cloruros, sodio y potasio en orina, puesto que su adición podría provocar una alteración de los resultados.

Los especímenes son almacenados refrigerados en nevera entre 2 y 7°C un máximo de dos días. Si se prevé un tratamiento analítico después de ese intervalo de tiempo se procede a congelarlos a -20°C.

3.- CONTROL DE CALIDAD

Siempre se realizan los análisis por duplicado y se utilizan controles internos de concentración conocida para cada parámetro analizado. Los controles internos utilizados son:

- Seronorm Trace Elements Whole Blood niveles I y II para cadmio, plomo, mercurio y selenio en sangre.
- Biorad Lyphocheck Assayed Chemistry Control niveles 1 y 2 para cobre y zinc en suero.
- Biorad Lyphocheck Urine Chemistry Control niveles 1 y 2 para creatinina, cloruros, sodio y cloruros en orina.
- Biorad Lyphocheck Urine Metals Control niveles 1 y 2 para cadmio, cobre, plomo, selenio, mercurio y zinc en orina.

También se dispone de controles externos de concentración desconocida en dos programas de interlaboratorios:

- Trace Elements External Quality Assesment Scheme (TEQAS). School of Biomedical and Life Sciences. University of Surrey. Reino Unido
- Interlaboratory Comparison Program. Centre de Toxicologie. Institut national de santé publique du Québec. Canadá.

4.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los estudios de linealidad y de precisión se realizaron con la hoja de cálculo Excel 2000 de Microsoft. El resto del análisis estadístico fue realizado con el paquete estadístico SPSS 7.5.

5.- EQUIPO INSTRUMENTAL

Se ha utilizado un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer 4110 ZL con corrector de fondo por efecto Zeeman longitudinal, así como un automuestreador de la misma firma modelo AS-72 para la determinación de cadmio, plomo, selenio en sangre así como cobre y selenio en orina. Las fuentes de emisión utilizadas fueron lámparas monoelementales de Perkin Elmer, de cátodo hueco para el cobre y plomo, y lámparas EDL para el cadmio y el selenio. Para todos los elementos se utilizaron tubos de grafito de calentamiento transversal, recubiertos de carbono pirolítico, con tapas (End-cup) y plataforma integrada.

Para la determinación de cadmio y plomo en orina se utilizó un ICP-MS de la casa Perkin Elmer modelo ELAN 6100DRC con un sistema nebulizador de alta sensibilidad compuesto por una “Cyclonic Spray Chamber” y un “Concentric Glass Nebulizer” de la casa Meinhard. Las muestras eran introducidas por medio de un automuestreador AS-91.

En el caso del cobre en suero y del zinc en suero y orina, se utilizó un espectrómetro de absorción atómica de llama Perkin Elmer modelo AANALYST 300 con un nebulizador

de alta sensibilidad modelo Gem Tip, un mechero de 10 cm y lámparas de cátodo hueco monoelementales de Perkin Elmer.

Un Autoanalizador Beckman Synchron CX-5 para la determinación de sodio, cloruros, potasio y creatinina en orina.

Se ha utilizado un sistema de análisis de mercurio con inyección de flujo que utiliza la técnica de espectroscopía de absorción atómica y vapor frío (CVAAS) de la casa Perkin-Elmer modelo FIMS-400, con un automuestreador AS-90. El equipo utiliza una celda con una longitud de 260 mm y una lámpara de baja presión de mercurio como fuente de alimentación. Se utiliza un separador gas-líquido de PTFE, con una membrana de PTFE para evitar el paso de humedad que reduciría la señal. En la Tabla 1 se indican las conexiones utilizadas.

Tabla 1.- *Conexiones utilizadas en el sistema de análisis de mercurio FIMS-400*

	Tubos	Diámetro interior (mm)	Código de Color
Bomba 1	Muestra	1.52	Azul-amarillo
	Portador	1.52	Azul-amarillo
Bomba 2	Solución reductora	1.14	Rojo-rojo
	Desecho	3.18	Negro-blanco

6.- REACTIVOS

Siempre se utiliza agua de resistividad 18 MS·cm obtenida con un sistema Milli-Q (Millipore, Milford, EE.UU.)

Triton X-100: grado para análisis de Merck, Darmstadt, Alemania.

Modificador de matriz de Paladio. Merck Darmstadt, Alemania.

Dicromato potásico grado para análisis, máximo 0,0000005% de Hg, Merck, Darmstadt, Alemania.

Borohidruro sódico grado para análisis. Merck, Darmstadt, Alemania.

Ácido Tricloroacético (CCl_3COOH) grado para análisis, Merck, Darmstadt, Alemania.

Ácido nítrico 65% (HNO_3) de grado suprapur de Merck, Darmstadt, Alemania.

Ácido sulfúrico 96% (H_2SO_4) de grado suprapur de Merck, Darmstadt, Germany.

Ácido clorhídrico 37% (HCl) grado para análisis, máximo 0,0000005% de Hg, Merck, Darmstadt, Alemania.

Reactivo de tampón electrolítico ISE SYNCHRON CX.

Reactivo de referencia electrolítica ISE.

El Reactivo Creatinina (CREA) de los sistemas SYNCHRON CX.

Calibrador CX MULTI de los sistemas SYNCHRON CX.

Estándares de calibración 1 y 2 del sistema SYNCHRON CX para cloruro, sodio y potasio en orina

Solución de tricloroacético al 15%

Solución antiespumante de silicona: Dow Corning antifoaming 110 A de Perkin Elmer

Solución reductora de mercurio: 0,2% (p/v), NaBH_4 ; 0,05% (p/v), dos lentejas de NaOH y 0,1% de solución antiespumante de silicona.

Solución estabilizante de mercurio: 0,5% $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ y 50% (v/v) HNO_3

Solución portadora: 10% (v/v) HCl

Soluciones diluyentes:

Solución diluyente de mercurio: 10 % (v/v) HNO_3 and 20% (v/v) H_2SO_4 in water.

Solución de dilución de paladio: modificador de matriz de Paladio al 1% (v/v), Triton X-100 0,1% (v/v) en agua.

Solución de dilución para ICP-MS (Bi etc)

Soluciones patrón madre:

Solución de 1000 mg/L de Cd, Cu, Pb, Se y Zn de Perkin Elmer.

Solución de 10 mg/L de Hg de Perkin Elmer.

Soluciones de calibración:

Disoluciones acuosas preparadas a partir de la solución madre con 1% (v/v) de HNO_3 y unas concentraciones de:

Pb de 0, 12,5, 25 y 50 $\mu\text{g/dL}$ para sangre.

Cd de 0, 2,5, 5 y 10 $\mu\text{g/L}$ para sangre.

Se de 0, 200, 100 y 50 $\mu\text{g/L}$ para sangre.

Cu de 0, 50, 100 y 200 $\mu\text{g/dL}$ para suero y de 0, 12,5, 25 y 50 $\mu\text{g/L}$ para orina.

Zn de 0, 100, 200 y 400 $\mu\text{g/dL}$ para suero y orina.

Solución multielemental de Perkin Elmer de 10 $\mu\text{g/L}$ de Pb y Cd, y diluciones acuosas 1:2 y 1:4 de la misma para la determinación de los mencionados elementos en orina.

Disoluciones acuosas preparadas a partir de la solución madre con 1% de solución estabilizante con unas concentraciones de mercurio de 0, 20, 50 y 100 $\mu\text{g/L}$.

Soluciones acuosas de adición de Se de 1 mg/L que se adicionan a las muestras para realizar una calibración de adiciones estándar, obteniéndose de cada muestra tres soluciones con adición 0, 100 $\mu\text{g/L}$ y 200 $\mu\text{g/L}$ al añadir:

- 100 μL de agua
- 50 μL de agua y 50 μL de solución de adición
- 100 μL de solución de adición

7.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Cadmio, Plomo y Selenio en sangre.

A 100 μL de los patrones y muestras se les añadieron 900 μL de la solución de dilución de paladio.

Cadmio y Plomo en orina

Tanto los patrones como las muestras son diluidas 1+20 con solución de dilución para ICP-MS al añadir 5 mL de dicha solución a 250 μL de patrón o muestra.

Cobre en suero

Los patrones y muestras se tratan con ácido tricloroacético 15% en una relación 1+2. Posteriormente son calentados a 60°C durante 4 minutos, recogiendo el sobrenadante después de centrifugar a 2500 rpm durante 9 minutos

Mercurio en sangre y orina

En un tubo de polipropileno con tapón a rosca se añaden 1 ml de una solución al 2 % de Triton X-100 y 0,5 ml de muestra de sangre, orina o solución de calibración. Después se añaden 0,1 ml de la solución estabilizante y se añaden: 1 ml de ácido nítrico concentrado y 2 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se cierra el tubo y se deja digerir la muestra durante la noche en una estufa a 60°C. Al día siguiente, y después de haber dejado enfriar la misma hasta temperatura ambiente, se diluye hasta 10 ml con la solución diluyente. La determinación del mercurio de la solución así preparada es llevada a cabo de acuerdo con los parámetros indicados.

Selenio y cobre en orina

Las muestras se diluyen 1+1 con la solución de dilución de paladio.

Zinc suero y orina

300 µL de muestra se diluyen con 1000 µL de agua.

Cloruros, potasio y sodio en orina

Sin ninguna preparación. Directamente en los pocillos del equipo donde se mezcla un volumen preciso de la muestra (69 microlitros) con una solución tamponada. La relación es una parte de muestra y 20 partes de reactivo. Se utiliza un tampón de alta concentración molar con el fin de establecer una fuerza iónica constante. Esto determina un coeficiente de actividad constante para el electrodo. Una vez establecido un coeficiente de actividad constante, se calibra el electrodo a unos valores de concentración establecidos.

Creatinina en orina

El sistema SYNCHRON CX dispensa automáticamente los volúmenes apropiados de muestra y reactivo en la cubeta. La proporción usada para la orina es una parte de muestra a 73 partes de reactivo.

Todos los parámetros de elementos traza se determinan después de una calibración con patrones acuosos en el equipo correspondiente con la excepción del selenio en orina que se determina calculando la ordenada en el origen de la recta de regresión obtenida, de acuerdo con el método de adiciones, por tener efecto matriz.

8.- PARÁMETROS INSTRUMENTALES

En el caso del mercurio en sangre u orina la longitud de onda de lectura es 253,7 nm, utilizando un ancho de rendija de 0,7 nm. La lectura de absorbancia se efectúa en modo altura de pico con un tiempo de corrección de la línea base de 2 s, sin retraso en la lectura.

El programa utilizado en el equipo de análisis de mercurio (FIMS) se muestra en la Tabla 2. Las condiciones utilizadas en el espectrofotómetro de absorción atómica con atomización electrotérmica y corrección de fondo por efecto Zeeman se muestran en la Tabla 3. Las condiciones utilizadas en el espectrofotómetro de absorción atómica con atomización por llama se muestran en la Tabla 4.

Tabla 2.- Programa de inyección de flujo utilizado en el equipo de análisis de mercurio

Etapa	Tiempo (s)	Bomba 1 (rpm)	Bomba 2 (rpm)	Válvula	Lectura
prellenado	7	100	120	Llenado	No
1	10	100	120	Llenado	No
2	25	0	120	Inyección	Yes

Tabla 3.- Condiciones instrumentales de los elementos analizados en el espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer 4110 ZL.

Elemento	Espécimen	Longitud de onda (nm)	Intensidad de lámpara (mA)	Rendija (nm)	Volumen de muestra inyectado (μL)	Lectura de absorbancias
Pb	Sangre	283.3	10	0,7	25	área
Cd	Sangre	228.8	230	0.7	20	área
Se	Sangre y orina	196	290	2.0	20	área
Cu	orina	324.8	15	0.7	20	área

Tabla 4.- Condiciones instrumentales de los elementos analizados en el espectrómetro de absorción atómica de llama Perkin Elmer modelo AANALYST 300.

Elemento	Espécimen	Longitud de onda (nm)	Intensidad de lámpara (mA)	Rendija (nm)	Aire-acetileno (mL/min)	Lectura de absorbancias
Cu	Suero	324,8	15	0,7	0,8 y 3,3	Media 0,5 s.
Zn	Suero y orina	213,9	15	0,7	0,9 y 3,2	Media 0,5 s.

Las rampas de temperaturas utilizadas para cada uno de los parámetros analíticos en el espectrofotómetro de absorción atómica con atomización electrotérmica y corrección de fondo por efecto Zeeman se muestran en las Tablas 5, 6, 7, 8 y 9.

Tabla 5.- Rampa de temperaturas para la determinación de cadmio en sangre

	Temperatura (°C)	Rampa (s.)	Tiempo (s.)	Flujo Argon (mL/min)
SECADO	80	1	10	250
	110	5	20	250
	130	5	30	250
MINERALIZACIÓN	1200	10	20	250
ATOMIZACIÓN	2400	0	54	0
LIMPIEZA	2600	1	5	250

Tabla 6.- Rampa de temperaturas para la determinación de plomo en sangre

	Temperatura (°C)	Rampa (s.)	Tiempo (s.)	Flujo Argon (mL/min)
SECADO	100	1	20	250
	130	5	30	250
	680	10	20	250
MINERALIZACIÓN	680	10	20	250
ATOMIZACIÓN	2000	0	5	0
LIMPIEZA	2600	1	10	250

Tabla 7.- Rampa de temperaturas para la determinación de selenio en sangre

	Temperatura (°C)	Rampa (s.)	Tiempo (s.)	Flujo Argon (mL/min)
SECADO	110	1	20	250
	130	1	30	250
MINERALIZACIÓN	1250	5	30	250
ATOMIZACIÓN	2000	0	4	0
LIMPIEZA	2450	1	3	250

Tabla 8.- Rampa de temperaturas para la determinación de selenio en orina

	Temperatura (°C)	Rampa (s.)	Tiempo (s.)	Flujo Argon (mL/min)
SECADO	110	1	20	250
	130	1	30	250
MINERALIZACIÓN	1100	5	40	250
	1200	1	20	250
ATOMIZACIÓN	2050	0	5	0
LIMPIEZA	2600	1	3	250

Tabla 9.- Rampa de temperaturas para la determinación de cobre en orina

	Temperatura (°C)	Rampa (s.)	Tiempo (s.)	Flujo Argon (mL/min)
SECADO	80	1	10	250
	110	5	20	250
	130	5	30	250
MINERALIZACIÓN	1200	10	20	250
ATOMIZACIÓN	2400	0	5	0
LIMPIEZA	2600	1	5	250

9.- PARÁMETROS ANALÍTICOS

CADMIO EN SANGRE

Linealidad

El estudio de linealidad de la curva de calibración se realizó con soluciones patrón, diluidas de la misma forma que se haría con las muestras, en un intervalo entre 0 y 10 µg/L, manteniéndose la linealidad en todo el intervalo de concentraciones. El

coeficiente de variación de los factores de respuesta, relación entre absorbancia y concentración, fue de 2,5%, inferior al 5% considerado como máximo aceptable para el criterio de linealidad (73). La recta de regresión lineal obtenida muestra una varianza de la pendiente, expresada en relación porcentual a la media, de 0,6% inferior al 2% considerado como máximo aceptable para el criterio de linealidad (73). El coeficiente de correlación de la recta de regresión fue 0,99899, superior a 0,99, valor considerado como mínimo aceptable para el criterio de linealidad (73). Para realizar el test de proporcionalidad, se determina el límite de confianza para una probabilidad del 95% del valor de la ordenada en el origen de la recta de las soluciones patrón. Este último tiene un valor de $0,0005 \pm 6$ ($N=32$, $p=0,05$), que incluye el valor cero.

Límites de detección

El límite de detección instrumental, calculado como tres veces la desviación estandar de 30 blancos de reactivos, tiene un valor de 0,01 $\mu\text{g/L}$ para las soluciones acuosas sin dilución y de 0,1 $\mu\text{g/L}$ para sangres, a la dilución que se debe realizar en el procedimiento. La masa característica obtenida es de 1,2 pg que resulta ser similar a la marcada en las especificaciones de Perkin Elmer (1,3 pg).

Precisión y Exactitud

Se realizaron los ensayos de precisión y exactitud con muestras de referencia de sangre "Seronorm Trace Elements Whole Blood level 1" Lote 404107 y "level 2" lote 404108 con unos valores diana de plomo de 0,7 $\mu\text{g/L}$ y 6,4 $\mu\text{g/L}$, respectivamente. La media recuperación media para el nivel 1 fue 88,1% con una precisión del 13%. Para el nivel 2 la recuperación media fue 97,7% con una precisión de 4,3%.

En la figura 3 se observan los márgenes de aceptabilidad del Interlaboratorio de la Universidad de Surrey y los resultados obtenidos desde enero de 2001 hasta octubre de 2002.

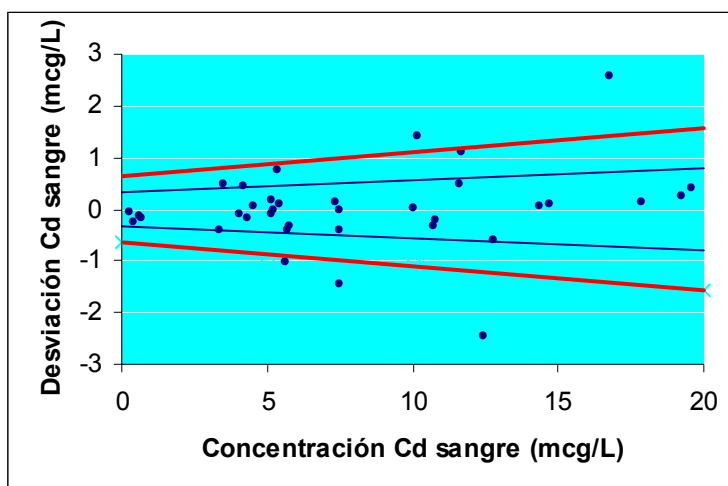


Figura 3.- Márgenes de aceptabilidad del Interlaboratorio de la Universidad de Surrey y resultados obtenidos desde enero de 2001 hasta octubre de 2002 en muestras de cadmio en sangre.

CADMIO EN ORINA

Linealidad

El estudio de linealidad de la curva de calibración se realizó con soluciones patrón, diluidas de la misma forma que se haría con las muestras, en un intervalo entre 0 y 10 $\mu\text{g/L}$, manteniéndose la linealidad en todo el intervalo de concentraciones. El coeficiente de variación de los factores de respuesta, relación entre absorbancia y concentración, fue de 2%, inferior al 5% considerado como máximo aceptable para el criterio de linealidad (73). La recta de regresión lineal obtenida muestra una varianza de la pendiente, expresada en relación porcentual a la media, de 1% inferior al 2% considerado como máximo aceptable para el criterio de linealidad (73). El coeficiente de correlación de la recta de regresión fue 0,99975, superior a 0,99, valor considerado como mínimo aceptable para el criterio de linealidad (73).

Límite de detección

El límite de detección instrumental, calculado como tres veces la desviación estándar de 30 blancos de reactivos, tiene un valor de 0,62 ng/L para las soluciones acuosas sin dilución y de 0,013 $\mu\text{g/L}$ para las orinas, a la dilución que se debe realizar en el procedimiento.

Precisión y Exactitud

Se realizaron los ensayos de precisión y exactitud con muestras de referencia de orina de Bio-Rad Lyphocheck “Urine Metals Control” niveles 1 y 2, de número de lote 69041 y 69042, respectivamente, con unos valores diana de cadmio en orina de 6,8 µg/L y 11,9 µg/L, respectivamente. Se analizaron tres días, diez veces cada día, la media de recuperación fue 99,3% con una precisión del 8%.

En la figura 4 se observan los márgenes de aceptabilidad del Interlaboratorio del Instituto Nacional de Salud Pública de Québec y los resultados obtenidos desde enero de 2001 hasta octubre de 2002. Todos los valores obtenidos en las muestras recibidas, se encuentran incluidos dentro del intervalo de aceptabilidad marcado por el citado Instituto.

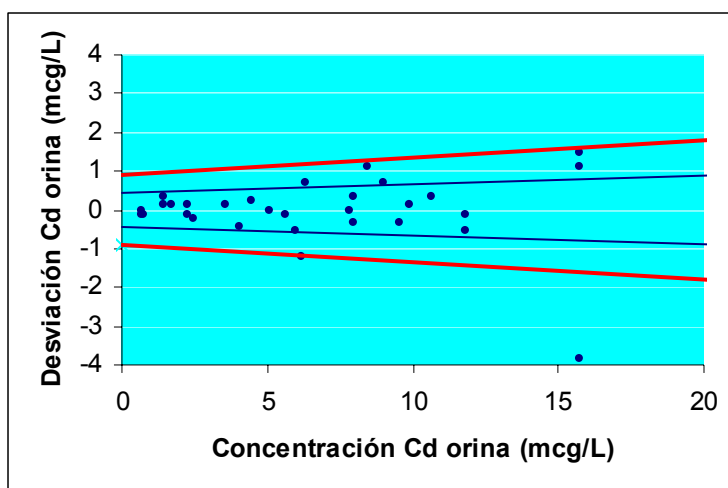


Figura 4.- Márgenes de aceptabilidad del Interlaboratorio del Instituto Nacional de Salud Pública de Quebec y resultados obtenidos desde enero de 2001 hasta octubre de 2002 en muestras de cadmio en orina.

CLORURO EN ORINA

Principio

El método utilizado es un electrodo selectivo indirecto (ISE indirecto). El electrodo selectivo de iones cloruro es un electrodo de dos fases Ag/AgCl. En la superficie del electrodo, se establece un equilibrio. Este equilibrio depende del producto de solubilidad en los iones plata y cloruro en la solución. Cuando se introducen iones cloruro en el sistema, el equilibrio alcanzado se pierde al cambiar la concentración iónica Ag^+ en la superficie del electrodo. Con este cambio, se produce otro cambio en el potencial del electrodo de acuerdo a la ecuación de Nernst, la cual está indirectamente relacionada con la actividad de iones cloruro en la muestra. El potencial desarrollado en el electrodo de iones cloruro está referido a un electrodo de referencia de sodio para compensar la pequeña variación en la temperatura y el ruido eléctrico por rechazo en modalidad común.

Rango analítico

El método empleado por el sistema SYNCHRON CX5 para determinar iones cloruro en orina provee el rango analítico entre 15 y 300 mmol/L. Aquellas muestras cuya concentración exceda el límite superior del rango deberán diluirse con agua desionizada y volverse a analizar.

Precisión y Exactitud

La precisión obtenida 2,1% es inferior a los marcados por Beckman para los sistemas SYNCHRON CX5 (4,5%) a una concentración de 100 mmol/L. La media de recuperación fue 106,6%

COBRE EN SUERO

Linealidad

El estudio de linealidad de la curva de calibración se realizó con soluciones patrón, diluidas de la misma forma que se haría con las muestras, en un intervalo entre 0 y 400 $\mu\text{g/dL}$, manteniéndose la linealidad en todo el intervalo de concentraciones. El coeficiente de variación de los factores de respuesta, relación entre absorbancia y concentración, fue de 2,3%, inferior al 5% considerado como máximo aceptable para el

criterio de linealidad (73). La recta de regresión lineal obtenida muestra una varianza de la pendiente, expresada en relación porcentual a la media, de 0,8% inferior al 2% considerado como máximo aceptable para el criterio de linealidad (73). El coeficiente de correlación de la recta de regresión fue 0,99938, superior a 0,99, valor considerado como mínimo aceptable para el criterio de linealidad (73). Para realizar el test de proporcionalidad, se determina el límite de confianza para una probabilidad del 95% del valor de la ordenada en el origen de la recta de las soluciones patrón. Este último tiene un valor de $0,023 \pm 0,024$ ($N=13$, $p=0,05$), que incluye el valor cero.

Límites de detección

El límite de detección instrumental, calculado como tres veces la desviación estándar de 30 blancos de reactivos, tiene un valor de 1,5 $\mu\text{g/dL}$ para las soluciones acuosas sin dilución y de 4,5 $\mu\text{g/L}$ para los sueros, a la dilución que se debe realizar en el procedimiento.

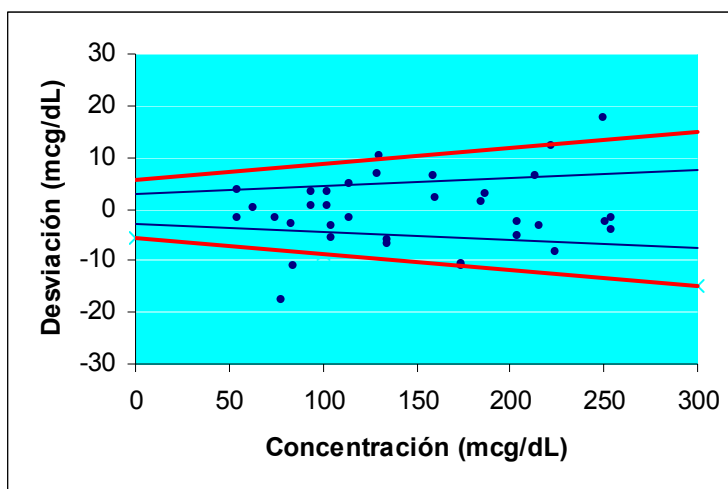


Figura 5.- *Márgenes de aceptabilidad del Interlaboratorio de la Universidad de Surrey y resultados obtenidos desde enero de 2001 hasta octubre de 2002 en muestras de cobre en suero.*

Precisión y Exactitud

Se realizaron los ensayos de precisión y exactitud con muestras de referencia de suero “Biorad Lyphocheck Assayed Chemistry Control” niveles 1 y 2 lote 14080 con unos

valores diana de 101 $\mu\text{g/dL}$ y 63 $\mu\text{g/dL}$, respectivamente. Se analizaron tres días, diez veces cada día, la media de recuperación fue 95% con una precisión del 6%.

En la figura 5 se observan los márgenes de aceptabilidad del Interlaboratorio de la Universidad de Surrey y los resultados obtenidos desde enero de 2001 hasta octubre de 2002.

COBRE EN ORINA

Linealidad

El estudio de linealidad de la curva de calibración se realizó con soluciones patrón, diluidas de la misma forma que se haría con las muestras, en un intervalo entre 0 y 100 $\mu\text{g/L}$, manteniéndose la linealidad en todo el intervalo de concentraciones. El coeficiente de variación de los factores de respuesta, relación entre absorbancia y concentración, fue de 2,1%, inferior al 5% considerado como máximo aceptable para el criterio de linealidad (73). La recta de regresión lineal obtenida muestra una varianza de la pendiente, expresada en relación porcentual a la media, de 0,7% inferior al 2% considerado como máximo aceptable para el criterio de linealidad (73). El coeficiente de correlación de la recta de regresión fue 0,9998, superior a 0,99, valor considerado como mínimo aceptable para el criterio de linealidad (73). Para realizar el test de proporcionalidad, se determina el límite de confianza para una probabilidad del 95% del valor de la ordenada en el origen de la recta de las soluciones patrón. Este último tiene un valor de $-0,0011 \pm 0,0012$ ($N=9$, $p=0,05$), que incluye el valor cero.

Límites de detección

El límite de detección instrumental, calculado como tres veces la desviación estandar de 30 blancos de reactivos, tiene un valor de 0,6 $\mu\text{g/L}$ para las soluciones acuosas sin dilución y de 1,3 $\mu\text{g/L}$ para sangres, a la dilución que se debe realizar en el procedimiento.

Precisión y Exactitud

Se realizaron los ensayos de precisión y exactitud con muestras de referencia de orina Lyphocheck Urine Metals Control level 1” Lote 69071 y “level 2” lote 69072 con unos valores diana de plomo de 12,2 µg/L y 37 µg/L, respectivamente. Se analizaron tres días, diez veces cada día, la media de recuperación fue 100,3% con una precisión del 5,7% a 12,2 µg/L y 2,4% a 37 µg/L%.

CREATININA EN ORINA*Principio*

El Reactivo Creatinina se usa para medir la concentración de creatinina mediante el método cinético de Jaffé modificado. En la reacción, la creatinina se combina con picrato en una solución alcalina para formar un complejo creatinina-picrato.

Rango analítico

El método empleado por el sistema SYNCHRON CX5 para determinar creatinina en orina provee el rango analítico entre 10 a 400 mg/dL (884 a 35.360 µmol/L). Las muestras con concentraciones que excedan el límite superior del rango analítico deben diluirse con solución salina y volver a analizarse.

Precisión y exactitud

La precisión obtenida 5% es similar a los marcados por Beckman para los sistemas SYNCHRON CX5 (4,5%) para una concentración de creatinina en orina de 66,7 µg/dL. La media de recuperación fue 98%

PLOMO EN SANGRE

Linealidad

El estudio de linealidad de la curva de calibración se realizó con soluciones patrón, diluidas de la misma forma que se haría con las muestras, en un intervalo entre 0 y 50 µg/dL, manteniéndose la linealidad en todo el intervalo de concentraciones. El coeficiente de variación de los factores de respuesta, relación entre absorbancia y concentración, fue de 3,3%, inferior al 5% considerado como máximo aceptable para el criterio de linealidad (73). La recta de regresión lineal obtenida muestra una varianza de la pendiente, expresada en relación porcentual a la media, de 0,9% inferior al 2% considerado como máximo aceptable para el criterio de linealidad (73). El coeficiente de correlación de la recta de regresión fue 0,99889, superior a 0,99, valor considerado como mínimo aceptable para el criterio de linealidad (73). Para realizar el test de proporcionalidad, se determina el límite de confianza para una probabilidad del 95% del valor de la ordenada en el origen de la recta de las soluciones patrón. Este último tiene un valor de $0,0004 \pm 9$ (N=32, p=0,05), que incluye el valor cero.

Límites de detección

El límite de detección instrumental, calculado como tres veces la desviación estándar de 30 blancos de reactivos, obteniéndose un valor de 0,04 µg/dL para las soluciones acuosas sin dilución y de 0,4 µg/dL para sangres, a la dilución que se debe realizar en el procedimiento. La masa característica obtenida es de 29 pg que resulta ser similar a la marcada en las especificaciones de Perkin Elmer (30 pg).

Precisión y Exactitud

Se realizaron los ensayos de precisión y exactitud con muestras de referencia de sangre “Seronorm Trace Elements Whole Blood level 1” Lote 404107 y “level 2” lote 404108 con unos valores diana de plomo de 3,4 µg/dL y 38,5 µg/dL, respectivamente. Se analizaron tres días, diez veces cada día, la media de recuperación para cada nivel fue 96,8 y 99,6 %, respectivamente, con una precisión de 5,1 y 2,3%, respectivamente.

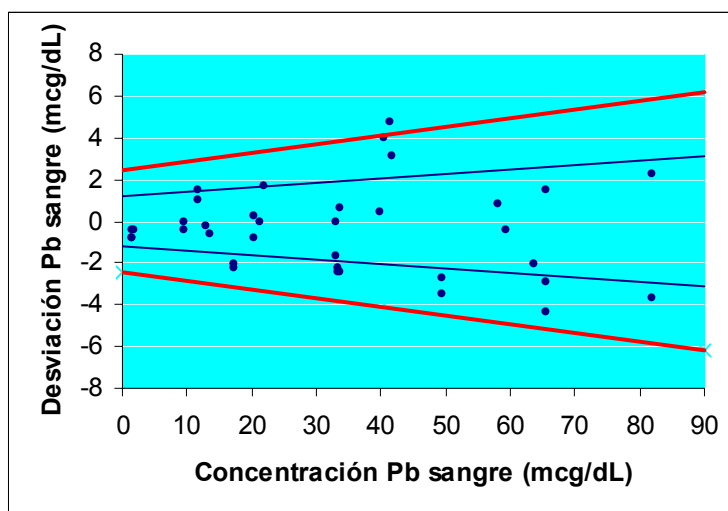


Figura 6.- Márgenes de aceptabilidad del Interlaboratorio de la Universidad de Surrey y resultados obtenidos desde enero de 2001 hasta octubre de 2002 en muestras de plomo en sangre.

En la figura 6 se observan los márgenes de aceptabilidad del Interlaboratorio de la Universidad de Surrey y los resultados obtenidos desde enero de 2001 hasta octubre de 2002, de los que tan sólo uno se sale de los citados márgenes.

PLOMO EN ORINA

Linealidad

El estudio de linealidad de la curva de calibración se realizó con soluciones patrón, diluidas de la misma forma que se haría con las muestras, en un intervalo entre 0 y 100 $\mu\text{g/L}$, manteniéndose la linealidad en todo el intervalo de concentraciones. El coeficiente de variación de los factores de respuesta, relación entre la señal obtenida (números de cuentas) y la concentración, fue de 4%, inferior al 5% considerado como máximo aceptable para el criterio de linealidad (73). La recta de regresión lineal obtenida muestra una varianza de la pendiente, expresada en relación porcentual a la media, de 1,1% inferior al 2% considerado como máximo aceptable para el criterio de linealidad (73). El coeficiente de correlación de la recta de regresión fue 0,99885, superior a 0,99, valor considerado como mínimo aceptable para el criterio de linealidad (73).

Límite de detección

El límite de detección instrumental, calculado como tres veces la desviación estándar de 30 blancos de reactivos, tiene un valor de 0,04 µg/L para las soluciones acuosas sin dilución y de 0,84 µg/L para las orinas, a la dilución que se debe realizar en el procedimiento.

Precisión y Exactitud

Se realizaron los ensayos de precisión y exactitud con muestras de referencia de orina de Bio-Rad Lyphocheck “Urine Metals Control” niveles 1 y 2, de número de lote 69041 y 69042, respectivamente, con unos valores diana de cadmio en orina de 14,8 µg/L y 71,4 µg/L, respectivamente. Se analizaron tres días, diez veces cada día, la media de recuperación fue 101,7% con una precisión del 7%.

En la figura 7 se observan los márgenes de aceptabilidad del Interlaboratorio del Instituto Nacional de Salud Pública de Québec y los resultados obtenidos desde enero de 2001 hasta octubre de 2002.

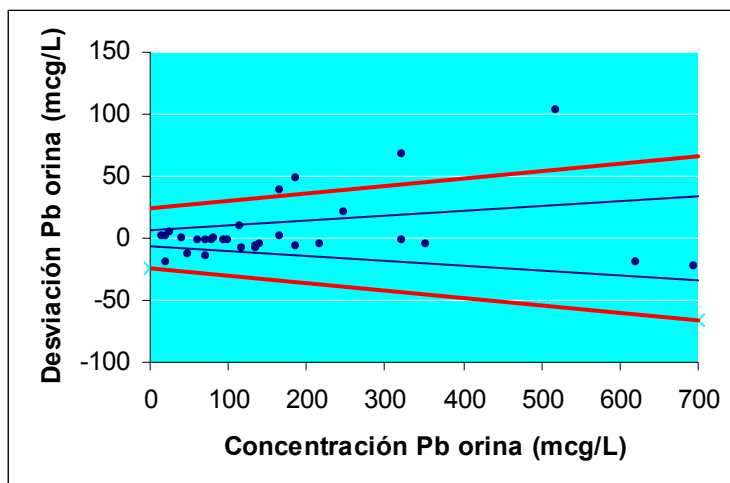


Figura 7.- Márgenes de aceptabilidad del Interlaboratorio del Instituto Nacional de Salud de Quebec y resultados obtenidos desde enero de 2001 hasta octubre de 2002 en muestras de cadmio en sangre.

POTASIO EN ORINA

Principio

El método utilizado es un electrodo selectivo indirecto (ISE indirecto). El electrodo de potasio tiene una membrana de valinomicina. La estructura física de esta membrana presenta unas cavidades complejas de diámetro casi igual al del ión potasio. Al formarse un complejo, se produce un cambio en el voltaje (potencial) dentro de la membrana. Este potencial está referido a un electrodo de referencia de sodio, en el cual pequeñas variaciones de temperatura y el ruido eléctrico se compensan mediante técnicas de rechazo en modalidad común. El potencial varía de acuerdo a la ecuación de Nernst y permite calcular la concentración de sodio en una solución. En condiciones ideales, el electrodo presenta una selectividad de 1000:1 respecto al sodio y no es sensible a los iones hidrógeno en soluciones tamponadas de pH 3 a 9.

Rango analítico

El método empleado por el sistema SYNCHRON CX5 para determinar potasio en orina provee el rango analítico entre 2 a 200 mmol/L. Aquellas muestras cuya concentración exceda el límite superior del rango deberán diluirse con agua desionizada y volverse a analizar.

Precisión y exactitud

La precisión obtenida 2,3% es inferior a los marcados por Beckman para los sistemas SYNCHRON CX5 (6%) para una concentración de creatinina en orina de 50 mmol/L. La media de recuperación fue 93,9%

SELENIO EN SANGRE

Linealidad

El estudio de linealidad de la curva de calibración se realizó con soluciones patrón, diluidas de la misma forma que se haría con las muestras, en un intervalo entre 0 y 600 µg/L, manteniéndose la linealidad hasta los 400µg/L. La curva de calibrado de trabajo, comprendida entre 0 y 400 µg/L ha mostrado, en cada punto, una desviación estándar relativa máxima de 3,7%. La recta de regresión lineal obtenida muestra una varianza de la pendiente, expresada en relación porcentual a la media, de 0,8% y un coeficiente de correlación de 0,99959. Para realizar el test de proporcionalidad, se determina el límite

de confianza para una probabilidad del 95% del valor de la ordenada en el origen de la recta de las soluciones patrón. Este último tiene un valor de $0,6 \cdot 10^{-4} \pm 6,7 \cdot 10^{-4}$ ($N=15$, $p=0,05$), que incluye el valor cero.

Límites de detección

El límite de detección instrumental, calculado como tres veces la desviación estandar de 30 blancos de reactivos, tiene un valor de $0,34 \mu\text{g/L}$ para las soluciones patrón y de $3,4 \mu\text{g/L}$ para sueros y sangres, a la dilución que se debe realizar en el procedimiento. La masa característica obtenida es de $39,1 \text{ pg}$ que resulta ser inferior que la marcada en las especificaciones de Perkin Elmer (45 pg).

Precisión y Exactitud

Se realizaron los ensayos de precisión y exactitud con muestras de referencia de sangre “Seronorm Trace Elements Whole Blood level 1” Lote 404107, y “Seronorm Trace Elements Whole Blood level 2” Lote MR9067, con valores diana de $80 \mu\text{g/L}$ y $112 \mu\text{g/L}$ de Se. La media de recuperación fue $99,6\%$ y $100,6\%$ con una precisión del $3,6\%$ y $5,3\%$

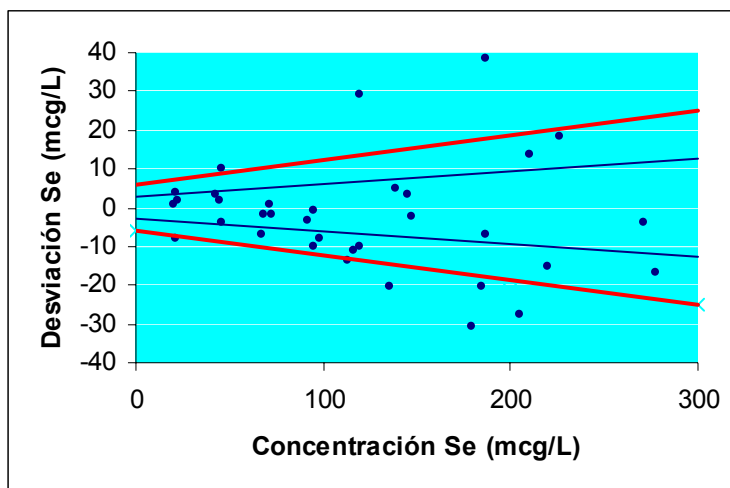


Figura 8.- Márgenes de aceptabilidad del Interlaboratorio de la Universidad de Surrey y resultados obtenidos desde enero de 2001 hasta octubre de 2002 en muestras de selenio en suero.

SELENIO EN ORINA

Límites de detección

El límite de detección instrumental, calculado como tres veces la desviación estándar de 30 blancos de reactivos, obteniéndose un valor de 7 µg/L para la orina a la dilución que se debe realizar en el procedimiento.

Precisión y Exactitud

Se realizaron los ensayos de precisión y exactitud con muestras de referencia de orina de Biorad “Lyphocheck Urine Metals Control level 1” Lote 69071 y “level 2” lote 69072 con unos valores diana de selenio en orina de 81 µg/L y 249 µg/L, respectivamente. Se analizaron tres días, diez veces cada día, la media de recuperación fue 95% con una precisión del 9%.

SODIO EN ORINA

Principio

El método utilizado es un electrodo selectivo indirecto (ISE indirecto). Cuando la mezcla muestra/tampón entra en contacto con el electrodo, se produce un intercambio de iones sodio en la capa exterior hidratada del electrodo de sodio de vidrio. A medida que se realiza el intercambio de iones, se produce un cambio en el potencial (voltaje) en la superficie del electrodo. Este potencial está referido a un electrodo de referencia de sodio, en el cual pequeñas variaciones de temperatura y el ruido eléctrico se compensan mediante técnicas de rechazo en modalidad común. El potencial varía de acuerdo a la ecuación de Nernst y permite calcular la concentración de sodio en la solución. En condiciones ideales, el electrodo presenta una selectividad de 300:1 respecto a los iones potasio y no es sensible a los iones hidrógeno en soluciones tamponadas de pH 6 a 10.

Rango analítico

El método empleado por el sistema SYNCHRON CX5 para determinar iones sodio en orina provee el rango analítico entre 10 a 200 mmol/L. Aquellas muestras cuya concentración exceda el límite superior del rango deberán diluirse con agua desionizada y volverse a analizar.

Precisión y Exactitud

La precisión obtenida 2,9% es inferior a los marcados por Beckman para los sistemas SYNCHRON CX5 (6%) a una concentración de 50 mmol/L. La media de recuperación fue 98,1%

ZINC EN SUERO Y ORINA*Linealidad*

El estudio de linealidad de la curva de calibración se realizó con soluciones patrón, diluidas de la misma forma que se haría con las muestras, en un intervalo entre 0 y 400 µg/dL, manteniéndose la linealidad en todo el intervalo de concentraciones. El coeficiente de variación de los factores de respuesta, relación entre absorbancia y concentración, fue de 2,6%, inferior al 5% considerado como máximo aceptable para el criterio de linealidad (73). La recta de regresión lineal obtenida muestra una varianza de la pendiente, expresada en relación porcentual a la media, de 0,8% inferior al 2% considerado como máximo aceptable para el criterio de linealidad (73). El coeficiente de correlación de la recta de regresión fue 0,99963, superior a 0,99, valor considerado como mínimo aceptable para el criterio de linealidad (73). Para realizar el test de proporcionalidad, se determina el límite de confianza para una probabilidad del 95% del valor de la ordenada en el origen de la recta de las soluciones patrón. Este último tiene un valor de $-0,0003 \pm 0,0008$ ($N=13$, $p=0,05$), que incluye el valor cero.

Límites de detección

El límite de detección instrumental, calculado como tres veces la desviación estándar de 33 blancos de reactivos, tiene un valor de 0,7 µg/dL para las soluciones acuosas sin dilución y de 2,9 µg/dL para sueros, a la dilución que se debe realizar en el procedimiento.

Precisión y Exactitud

Se realizaron los ensayos de precisión y exactitud con muestras de referencia de suero “Biorad Lyphocheck Assayed Chemistry Control” niveles 1 y 2 lote 14080 con unos valores diana de zinc de 48 µg/dL y 62 µg/dL, respectivamente. y con muestras de

referencia de orina “Biorad Lyphocheck Urine Metals Control” nivel 1 Lote 69071 y nivel 2 lote 69072 con unos valores diana de selenio en orina de 76 $\mu\text{g/L}$ y 1176 $\mu\text{g/L}$, respectivamente. Se analizaron tres días, diez veces cada día, la media de recuperación fue 102% con una precisión del 3,2%.

En la figura 9 se observan los márgenes de aceptabilidad del Interlaboratorio de la Universidad de Surrey y los resultados obtenidos desde enero de 2001 hasta octubre de 2002.

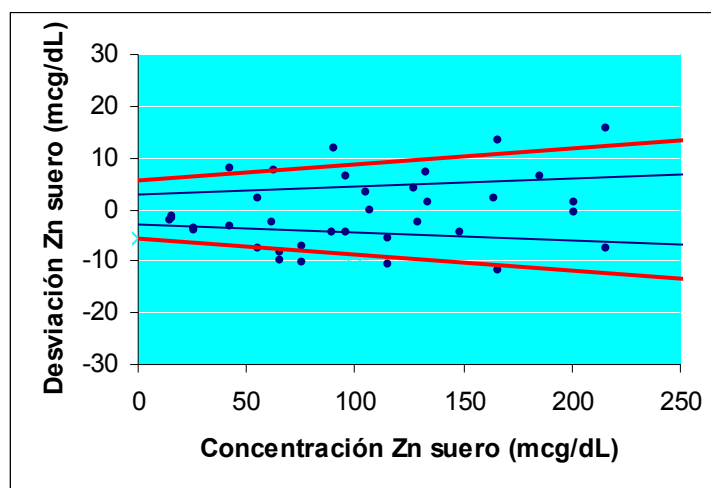


Figura 9.- Márgenes de aceptabilidad del Interlaboratorio de la Universidad de Surrey y resultados obtenidos desde enero de 2001 hasta octubre de 2002 en muestras de zinc en suero.

MERCURIO EN SANGRE Y ORINA

Linealidad

Se realiza una curva de calibración con tres patrones acuosos de cada una de las siguientes concentraciones 0,2, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 y 10 $\mu\text{g/L}$. Como se puede observar en la figura 3, la curva de calibración es lineal hasta 6 $\mu\text{g/L}$ (30 nmol/L). La pendiente de la curva de calibración fue $200,09 \cdot 10^{-4} \pm 1,94 \cdot 10^{-4} \text{ abs} \cdot \text{L}/\mu\text{g}$ ($40,018 \cdot 10^{-4} \pm 0,388 \text{ abs} \cdot \text{L}/\text{nmol}$) y el valor de la ordenada en el origen $-4.898 \cdot 10^{-4} \pm 5.837 \cdot 10^{-4} \text{ abs}$, dentro del intervalo hasta 6 $\mu\text{g/L}$ (30 nmol/L), un coeficiente de determinación de 0,9996, con una desviación estándar relativa (RSD) de la pendiente de 0.5%. El estadístico F de la mencionada curva era de 47320 con $p < 0.001$.

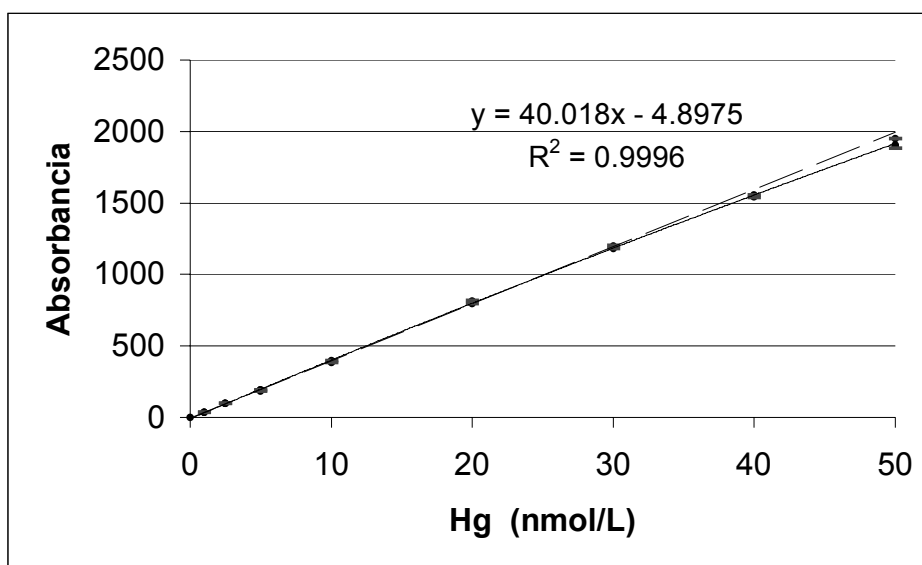


Figura 10.- Recta de regresión de la curva de calibración de mercurio obtenida con patrones hasta 30 nmol/L (6 $\mu\text{g/L}$) y prolongada hasta los 50 nmol/L (10 $\mu\text{g/L}$) en comparación con la recta de regresión obtenida con patrones hasta 50 nmol/L.

Límites de detección y cuantificación.

Debido que los blancos de mercurio no presentan pico de absorbancia. Para determinar el límite de detección de los blancos se extrapola la desviación estándar a través de una recta de regresión obtenida de los valores de desviaciones estándar obtenidas con concentraciones de patrones acuosos a bajas concentraciones, dentro de un intervalo de concentración de 1 a 10 nmol/l de Hg(II). El valor de la ordenada en el origen de esta curva, 0.6334, se considera que es el valor de la desviación estándar del blanco. Tres veces este valor dividido por el valor de la pendiente de la curva de calibración mencionada

antes, nos da el valor del límite de detección 0,0475 nmol/L (0,0095 µg/L). Este resultado fue confirmado por el análisis repetido de un patrón de mercurio a esa concentración. En el caso de muestra de sangre, utilizando la dilución del presente método, el límite de detección obtenido es de 0,95 nmol/L (0,19 µg/L). De esta manera, el límite de cuantificación, basado en diez veces el valor de la desviación estándar del blanco es de 3,2 nmol/L (0,64 µg/L).

Precisión y Exactitud

Se analizan, diez veces tres días distintos, tres niveles de Seronorm Trace Elements Whole

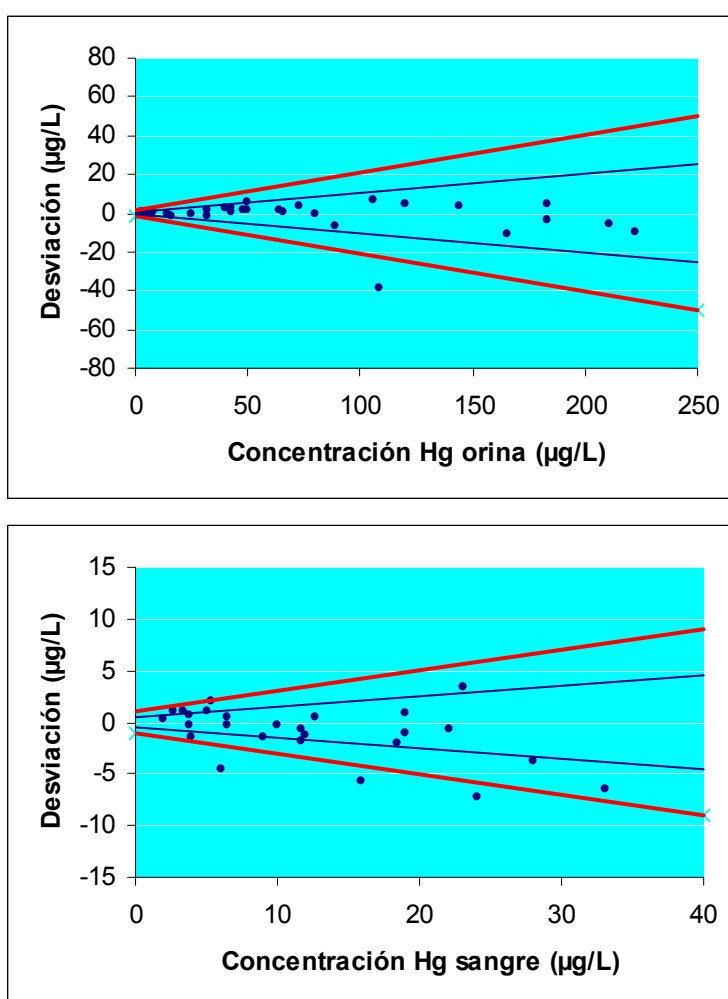


Figura 11.- *Márgenes de aceptabilidad del Interlaboratorio del Instituto Nacional de Salud Pública de Québec para el mercurio y resultados obtenidos desde enero de 2001 hasta octubre de 2002 en muestras de orina y sangre.*

Blood lotes 404107, 404108 y 404109 para determinar la exactitud y precisión del método.

Este material está certificado para el mercurio total. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 10. Las desviaciones estándar relativas medias dentro de cada día fueron 5.0%, 2.6% y 2.5% para 3 µg/L, 8 µg/L y 14 µg/L respectivamente. La precisión media de los tres días fue de 3.7%.

Los valores medios obtenidos para cada concentración se encuentran incluidos dentro del intervalo de aceptación marcado para esos niveles de Seronorm.

Los resultados obtenidos en el Intercomparativo del Instituto Nacional de Salud Pública de Québec para muestras de sangre y orina se reflejan en la figura 11.

10.- DESARROLLO DEL MÉTODO DE MERCURIO EN SANGRE Y ORINA

Desarrollo del método: *Variación de los parámetros instrumentales*

Velocidad de flujo de gas portador

Utilizando una solución acuosa de 30 nmol/l de mercurio se varía el flujo del gas portador (argon) desde 40 ml/minuto hasta 150 ml/minuto (ver figura 12) Aunque una velocidad de flujo de 50 ml/min da un pico de absorbancia de mayor altura, se elige como velocidad de flujo de trabajo 75 ml/min por tener una mejor resolución en la forma del pico de absorbancia aunque con una altura del pico de absorbancia algo inferior a la anterior.

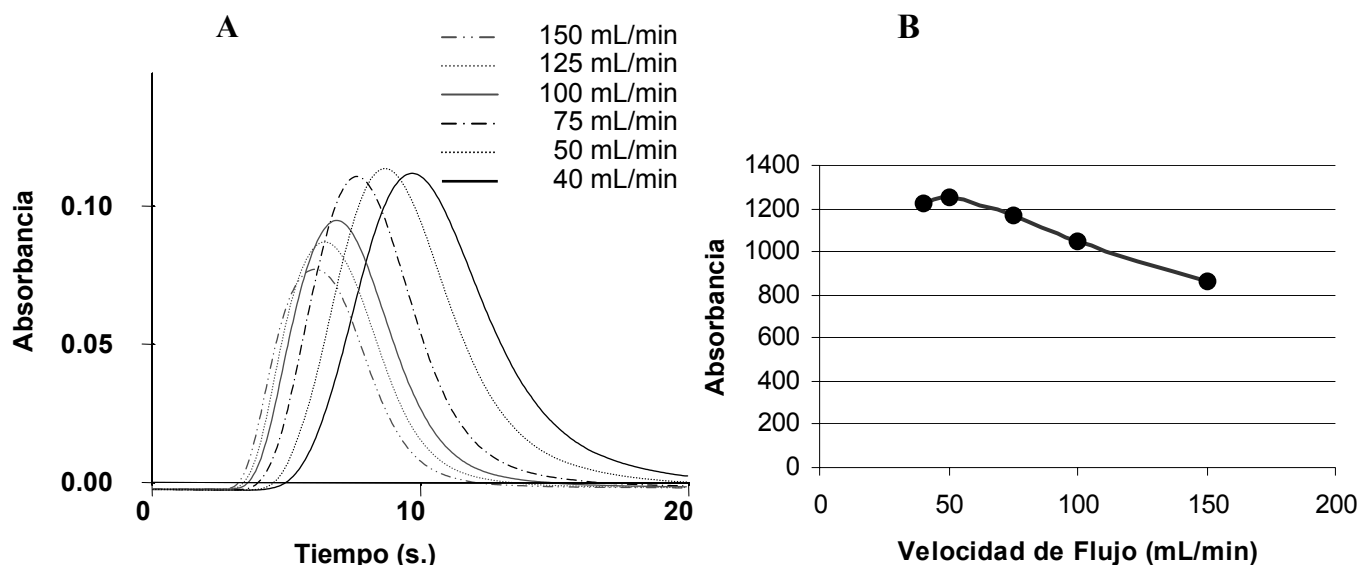


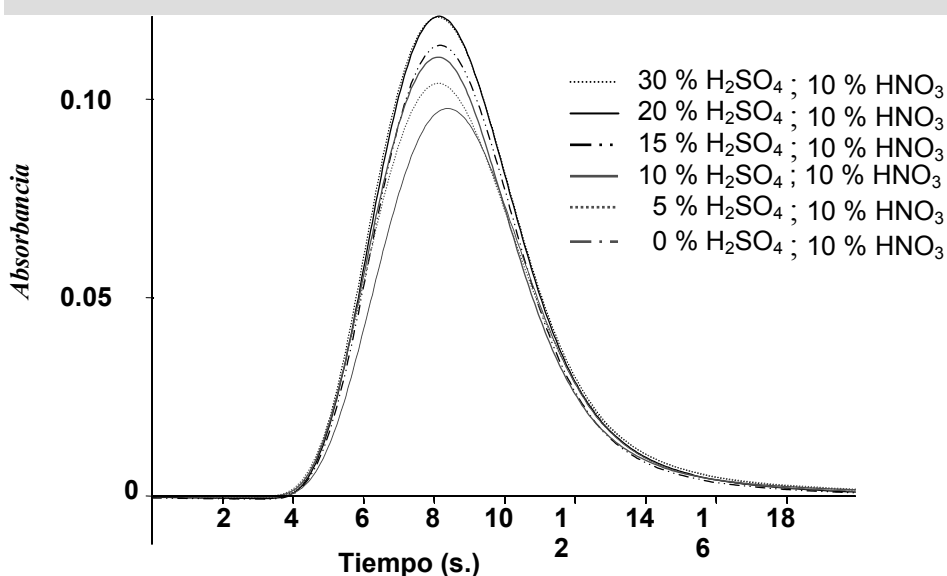
Figura 12.- Variación de la absorbancia con la velocidad de flujo del gas portador. A: Diferentes formas de los picos de absorbancia en relación con el flujo. B: Gráfica en la que se representa la absorbancia frente a la velocidad de flujo.

Influencia de los ácidos sulfúrico y nítrico

Puesto que la solución final, después de la digestión, va a tener una cierta concentración de los ácidos utilizados en la digestión, necesitamos conocer la influencia de estos ácidos sobre la absorción. Utilizando una concentración de 30 nmol/l se varía la concentración en la misma de los citados ácidos. En una primera fase, se varía la concentración de sulfúrico mientras se mantiene fija la concentración de nítrico a un 10 % (v/v). Como se puede observar en las figuras 13 y 14, la solución con una concentración de un 20 % (v/v) presenta el valor de absorbancia más elevado. Además, pequeñas variaciones en la concentración de ácido sulfúrico no suponen un gran cambio en la altura de pico de absorbancia.

En una segunda fase, a esa concentración de sulfúrico del 20%, se varía la concentración de ácido nítrico desde un 0% hasta un 30%, encontrándose un valor máximo de absorbancia a una concentración de 10% de ácido nítrico (ver figura 14B). El efecto del ácido nítrico sobre la absorbancia es menos importante que el provocado por el ácido sulfúrico: pequeñas variaciones en la concentración de ácido nítrico no suponen grandes cambios en la absorbancia. Puesto que la variación de la absorbancia con estos ácidos, que están presentes en las muestras debido a la digestión de las mismas, la disolución que se

Figura 13.- *Diferentes picos de absorbancia en relación con la concentración de ácido sulfúrico.*



utiliza en el método propuesto para diluir las muestras digeridas y los patrones acuosos tiene un 10 % nítrico y un 20% de sulfúrico. Con esa adición de ácidos conseguimos que las disoluciones siempre se encuentren en una zona de concentraciones de ácidos donde las pequeñas variaciones en la concentración de ácidos, debidas a una mayor o menor presencia de materia orgánica en la digestión, implique una pequeña variación en la absorbancia.

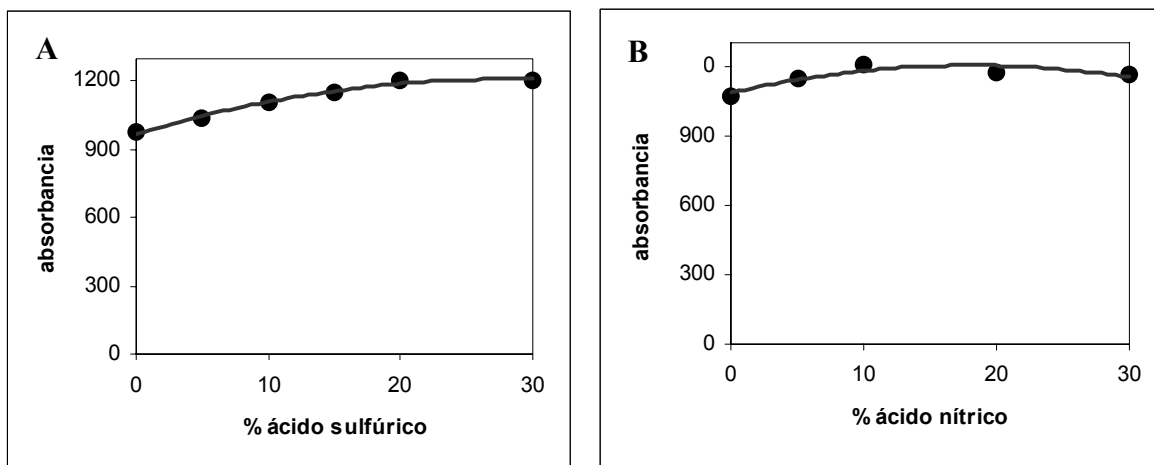


Figura 14.- Variación de la absorbancia en función de la concentración de ácidos sulfúrico y nítrico. A: la concentración de ácido nítrico se encuentra fija (10%) y la de sulfúrico es variable (0-30%). B: La concentración de ácido sulfúrico se fija en un 20 % y se varía la concentración de ácido nítrico.

Interferencias

El estudio de las interferencias no espectrales se realizó comparando la pendiente de rectas de regresión de la curva de calibración de trabajo con la obtenida obtenidas por el método de adiciones estándar. A una muestra de sangre total, Seronorm nivel III, se le añaden 100, 200 y 300 nmol de Hg(II) por litro. Cada muestra se determina por triplicado.

La pendiente de la curva de calibración ($2,301 \cdot 10^{-4}$ abs·L/nmol) se encuentra incluida en el intervalo de confianza al 95% de la recta de regresión del método de adiciones estándar ($2,333 \cdot 10^{-4} \pm 0,04 \cdot 10^{-4}$ abs·L/nmol). Esto implica la ausencia de interferencias no espectrales en la determinación de mercurio en sangre bajo las condiciones de este método y permite utilizar la curva de calibración con patrones acuosos para la cuantificación.

RESULTADOS

I.- MERCURIO

1.- SANGUÍNEO

La concentración media de mercurio en sangre en el grupo Control es 7,9 $\mu\text{g/L}$ con una desviación estándar de 6,888, siendo el número de casos válidos, $N=184$. El 95% de los casos del grupo Control se encuentran por debajo de 19,0 $\mu\text{g/L}$. La distribución se representa mediante un histograma en la figura I.1 y con un diagrama de cajas en la figura I.2.

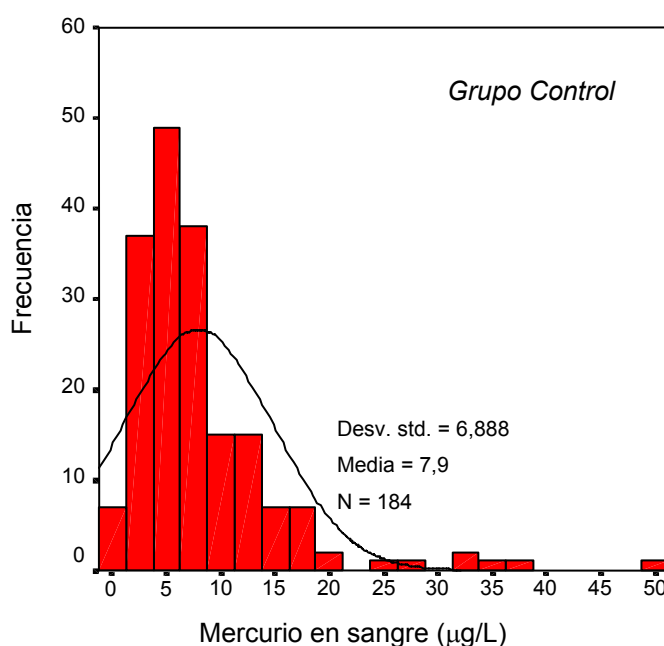


Figura I.1.- Histograma que representa la distribución de las concentraciones de mercurio en sangre en el grupo control.

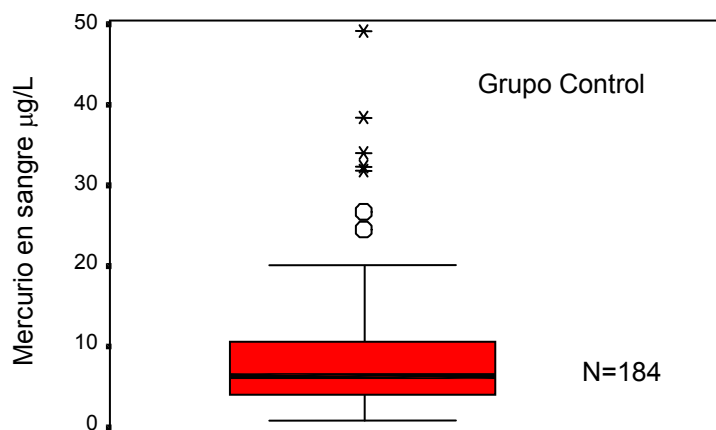


Figura I.2.- Diagrama de cajas que representa la distribución de los valores de mercurio en sangre en el grupo control

Si excluimos de la distribución los valores que superen 1,5 veces la amplitud intercuartil, también denominados valores extremos o “outliers”, la variable resultante tiene una media de 6,9 µg/L, con un 95% de los casos por debajo de 16,8 µg/L (ver Tabla I.1).

Tabla I.1.- Estadísticos para la variable concentración de mercurio en sangre (en microgramos por litro) con y sin valores extremos o “outliers”.

	N	Media	Mediana	Desv. std.	Asimetría		Curtosis		Mínimo	Máximo	Percentil 95
					Índice	Error típ.	Índice	Error típ.			
Hg Sangre	184	7,9	6,2	6,888	2,667	0,179	10,044	0,356	0,7	49,0	19,0
Hg Sangre (sin outliers)	177	6,9	6,0	4,411	0,956	0,183	0,335	0,363	0,7	20,0	16,8

Observando el histograma de frecuencias (figura I.1) y el diagrama de probabilidad normal (figura I.3) se observa que la concentración de mercurio en sangre no se distribuye de acuerdo a una ley Normal. Al transformar la variable en su logaritmo decimal, se observa en el diagrama de probabilidad normal de la figura I.4 que la nueva variable se acerca a una distribución normal, no pudiéndose descartar estadísticamente su normalidad al aplicársele una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov ($Z=0,874$; $p=429$).

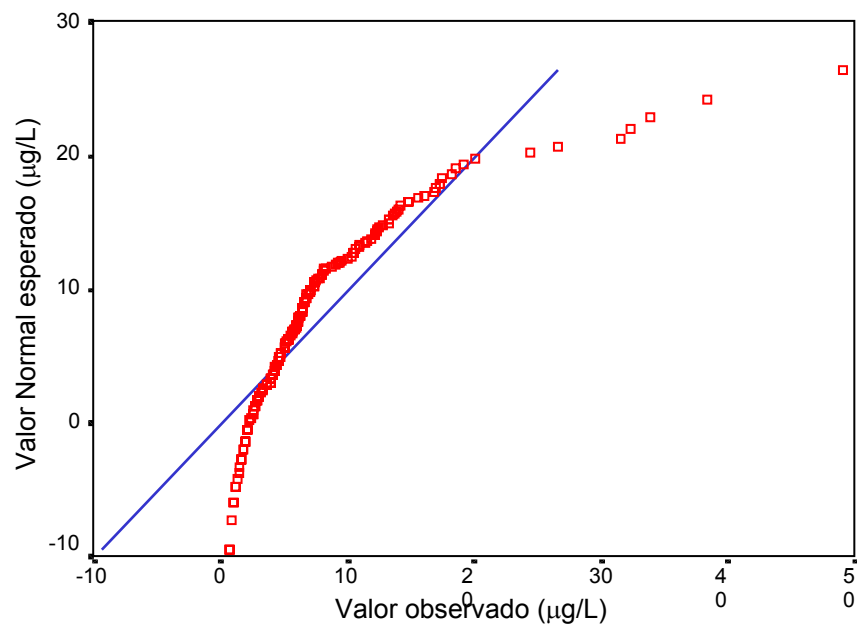


Figura I.3.- Diagrama de probabilidad normal de la concentración de mercurio en sangre. La línea azul representa la linealidad perfecta..

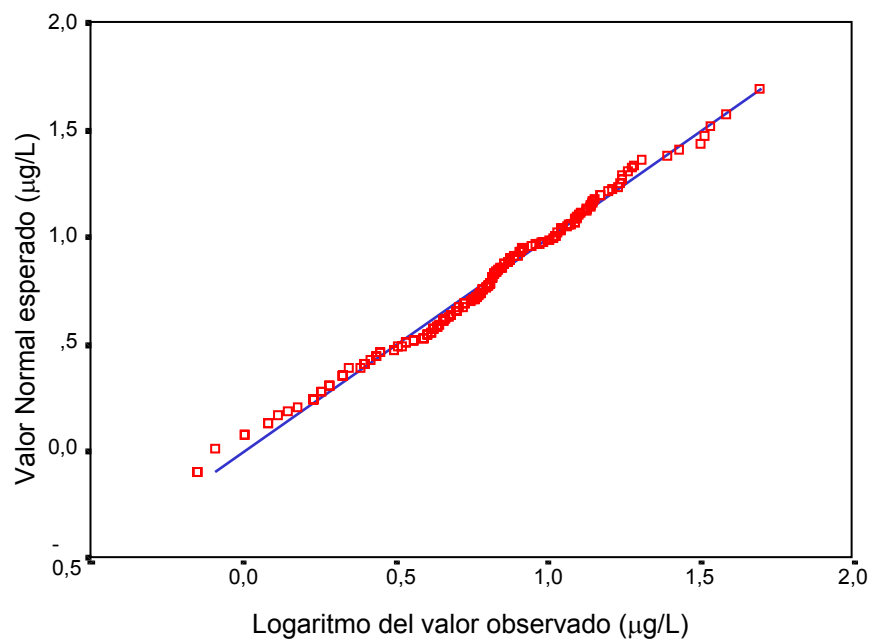


Figura I.4.- Diagrama de probabilidad normal del logaritmo de la concentración de mercurio en sangre. La línea azul representa la linealidad perfecta.

Aplicando una prueba de comparación de medias “t” de Student-Fisher para la concentración de mercurio en sangre entre los hombres (N= 111; 0=7,873; SD= 6,461) y mujeres (N= 69; 0=7,923; SD= 7,640) del grupo Control no aparece una diferencia estadísticamente significativa, como se observa en la Tabla I.2.

Tabla I.2.- Prueba “t” de comparación de medias de Student-Fisher para la concentración de mercurio en sangre en los hombres y mujeres del grupo Control.

Prueba de Levene para la igualdad de varianzas	Prueba T para la igualdad de medias							
	F	Sig.	t	gl	Sig	Diferencia de medias	Intervalo de confianza para la media	
Se han asumido varianzas iguales	0,000	0,991	-0,047	178	0,962	-0,05	-2,148	2,048
No se han asumido varianzas iguales			-0,045	126,46	0,964	-0,05	-2,238	2,137

Como se observa en la tabla I.3, existe correlación positiva entre la concentración de mercurio en sangre en el grupo control y la edad (N= 170; R=0,285; p<0,001), así como con la frecuencia en el consumo de pescado (N= 179; R=0,438; p<0,001) y una correlación inversa con el número de cigarrillos fumados al día (N= 176; R=-0,217; p=0,004). Para evitar que unos pocos valores extremos nos den un valor significativo de la correlación, se comprueban dicha correlaciones correlacionando el logaritmo de la concentración de mercurio en sangre o la concentración de mercurio en sangre sin valores extremos, permaneciendo la significación de todas las correlaciones.

Tabla I.3.- Comprobación de las correlaciones de Pearson entre la concentración de mercurio en sangre y las variables edad, número de cigarrillos fumados al día y la frecuencia en el consumo de pescado al excluir los valores extremos y al utilizar el logaritmo de la concentración de mercurio en sangre.

Variable		Mercurio en sangre	Mercurio en sangre (sin outliers)	Logaritmo del mercurio en sangre
Correlación de Pearson	Edad	0,285 **	0,244 **	0,265 **
	Número de cigarrillos/día	-0,217 **	-0,195 *	-0,238 **
	Frecuencia consumo de pescado	0,438 **	0,354 **	0,422 **
Significación	Edad	Menor de 0,001	0,002	<0,001
	Número de cigarrillos/día	0,004	0,011	0,001
	Consumo de pescado a la semana	Menor de 0,001	Menor de 0,001	Menor de 0,001
Número de casos	Edad	170	163	170
	Número de cigarrillos/día	176	169	176
	Frecuencia consumo de pescado	179	172	179

**La correlación es significativa al 99%.

**La correlación es significativa al 95%.*

Se debe tener en cuenta que la correlación entre la concentración de mercurio en sangre y el número de cigarrillos fumados al día desaparece al referir la variable mercurio en sangre con la edad ($N=167$; $R=-0,138$; $p=0,075$), al dividir la primera por la segunda de la misma forma que se relaciona la concentración urinaria de diversas sustancias con la creatinina para evitar el factor dilución de la orina. Sin embargo, la correlación entre el mercurio sanguíneo y la edad no desaparece al referir, o dividir, los valores del mercurio sanguíneo del grupo control con la variable número de cigarrillos de aquellos que fuman ($N=55$; $R=0,303$; $p=0,024$). (N es de sólo 55 al desaparecer aquellos valores 0 procedentes de aquellos que no fuman). Además, la concentración de mercurio en sangre correlaciona con la edad tanto en fumadores ($N=50$; $R=0,422$; $p=0,002$) como en no fumadores ($N=118$; $R=0,212$; $p=0,021$).

Puede ser que la correlación negativa inicial entre el mercurio sanguíneo y el número de cigarrillos fumados al día sea una correlación espúrea que se deba a la correlación negativa existente entre la edad, que está correlacionada positivamente con el mercurio sanguíneo, y el número de cigarrillos ($N=167$; $R=-0,308$; $p<0,001$). De hecho, cuando se realiza una prueba T de Student-Fisher de comparación de medias entre la concentración de mercurio en sangre, sin valores extremos o "outliers", de los grupos fumador y no fumador no aparece una diferencia estadísticamente significativa entre ambas.

Tabla I.4.- Prueba T de Student-Fisher para la comparación de las medias de la concentración de mercurio en sangre, sin valores extremos o "outliers", entre los fumadores y no fumadores del grupo Control.

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas			Prueba T para la igualdad de medias				
	F	Sig.	t	Gl	Sig.	Diferencia de medias	Intervalo de confianza para la media	
Se han asumido varianzas iguales	0,911	0,341	1,651	168	0,101	1,1777	-0,2309	2,5863
No se han asumido varianzas iguales			1,709	123,418	0,090	1,1777	-0,1867	2,5422

Para comprobar la relación existente entre la concentración de mercurio en sangre y la edad, se divide la edad en cinco grupos de un número de casos similares:

- Menor de 32 años, con 33 casos
- Mayor o igual a 32 años y menor de 40 años, con 33 casos
- Mayor o igual a 40 años y menor de 51 años, con 35 casos
- Mayor o igual a 51 años y menor de 60 años, 34 casos
- Mayor o igual a 60 años, 35 casos

Los distintos grupos obtenidos se pueden observar en la tabla I.5.

Tabla I.5.- Distintos descriptivos estadísticos para la concentración de mercurio en sangre de los distintos grupos de edad del grupo Control.

Grupo	Media	Mediana	Número de casos	Desviación Estándar	Intervalo de confianza 95%	
					Inferior	Superior
1	5,8	4,5	33	5,028	1,1	21,3
2	6,2	6,1	33	4,025	0,9	15,1
3	6,8	6,0	35	4,032	1,7	15,9
4	9,7	6,9	34	8,247	2,2	32,7
5	11,0	6,5	35	10,241	1,1	40,4

Debido a que los cinco grupos no se distribuyen de acuerdo a una distribución normal, puesto que la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks permite descartar, con una probabilidad mayor del 99%, la hipótesis de que cada uno de los cinco grupos de edad siguen una distribución normal, y la prueba de Levene refleja no homogeneidad de varianzas entre los grupos, se procede a realizar el cambio de la variable, concentración de mercurio en sangre, por su logaritmo.

De esta manera, y de acuerdo con la pruebas de Shapiro-Wilks y de Levene sobre los cinco nuevos grupos, no se puede descartar con una probabilidad estadísticamente significativa, que los grupos obtenidos al tomar logaritmos sigan una distribución normal (ver tabla I.6), ni que los cinco grupos tengan varianzas homogéneas.

Tabla I.6.- Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks para los cinco grupos de edad del grupo Control y las variables concentración de mercurio en sangre y logaritmo de la concentración de mercurio en sangre.

Variable	Grupos de edad	Estadístico de Shapiro-Wilks	Grados de libertad	Significación
Mercurio en sangre	1	0,755	33	<0,010 (**)
	2	0,934	33	0,062
	3	0,924	35	0,028 (*)
	4	0,754	34	<0,010 (**)
	5	0,778	35	<0,010 (**)
Logaritmo del mercurio en sangre	1	0,984	33	0,915
	2	0,933	33	0,057
	3	0,944	35	0,098
	4	0,977	34	0,718
	5	0,963	35	0,403

(*) Se rechaza la hipótesis nula con una probabilidad del 95%

(**) Se rechaza la hipótesis nula con una probabilidad del 99%

Tabla I.7.- Prueba de homogeneidad de varianzas de Levene para las los cinco grupos de edad en las variables concentración de mercurio en sangre y logaritmo de la concentración de mercurio en sangre del grupo Control.

Variable	Estadístico de Levene	Grados de libertad 1	Grados de libertad 2	Significación
Mercurio en sangre	5,252	4	165	0,001 (**)
Logaritmo del mercurio en sangre	0,829	4	165	0,509

(**) Hipótesis nula significativa al 99%

Una comparación de medias entre los cinco grupos de edad de la variable logaritmo de la concentración de mercurio en sangre por medio de un análisis de varianzas (ANOVA) (Tabla I.8) indica que se puede descartar la hipótesis de igualdad de medias entre los cinco grupos de edad con una probabilidad mayor del 95% y que confirma la relación de la edad con el mercurio sanguíneo.

Tabla I.8.- Análisis de Varianzas (ANOVA) entre los distintos grupos de edad del grupo Control para la variable logaritmo de la concentración de mercurio en sangre.

ANOVA	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Significación
Intergrupos	1,445	4	0,361	3,132	0,016 (*)
Intragrupos	19,035	165	0,115		
Total	20,480	169			

(*) Diferencia significativa al 95%

En la figura I.5 se observa, gráficamente, la relación entre la concentración de mercurio en sangre y la edad.

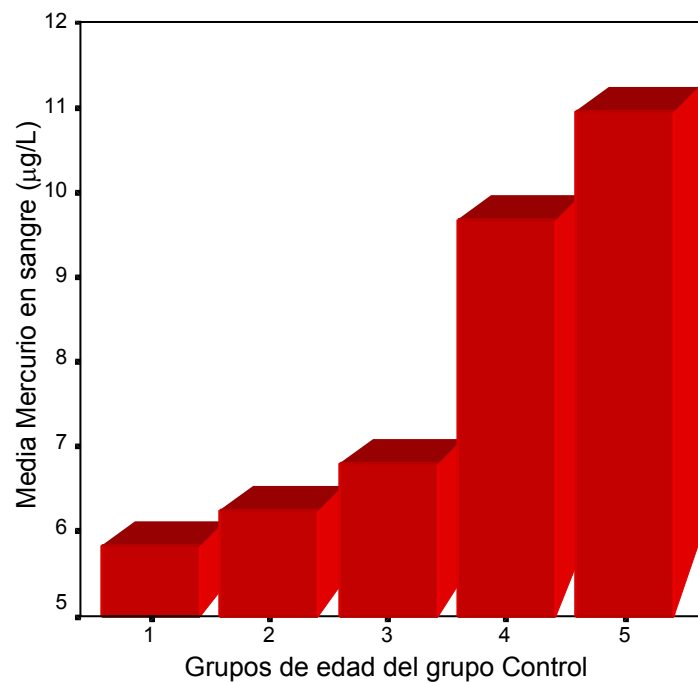


Figura I.5.- Representación gráfica en la que se observa la relación entre las medias de la concentración de mercurio sanguíneo de cada grupo de edad del grupo Control.

Sin embargo, el coeficiente de determinación resultante de aplicar una regresión lineal

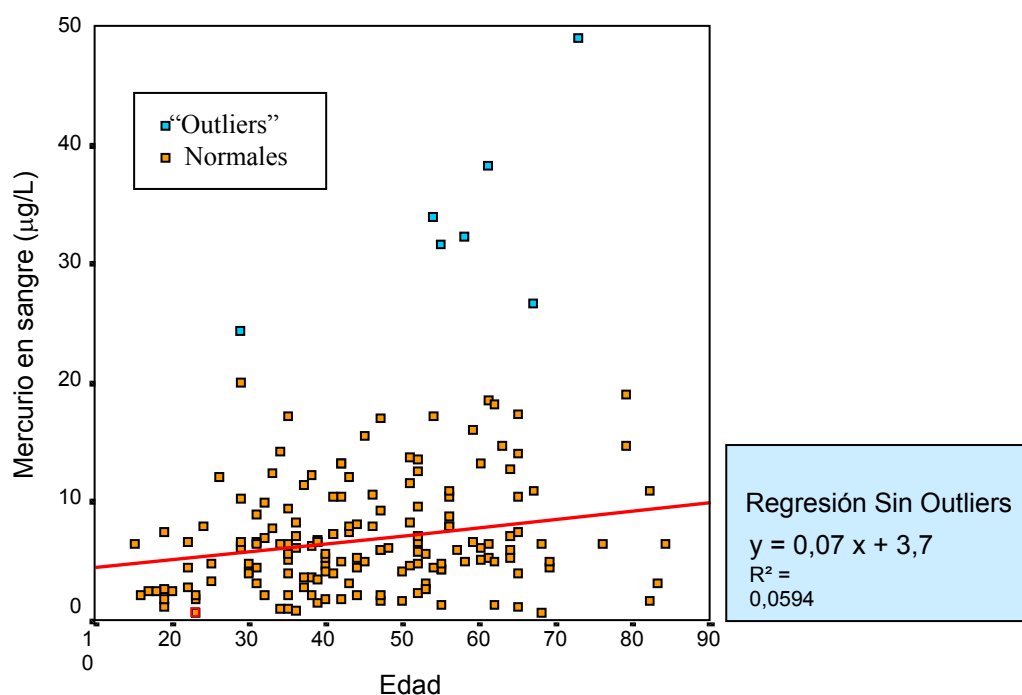


Figura I.6.- Regresión lineal entre en mercurio sanguíneo y la edad excluyendo los valores extremos o outliers

entre las variables concentración de mercurio en sangre sin valores extremos o “outliers” y la edad ($R^2=0,059$; $p=0,002$), indica que la variable edad tiene muy poco efecto sobre la concentración de mercurio en sangre (ver figura I.6)

En la figura I.7 y en la Tabla I.9, se observa la diferencias entre el mercurio sanguíneo de los distintos grupos con distinto consumo de pescado a la semana del grupo Control.

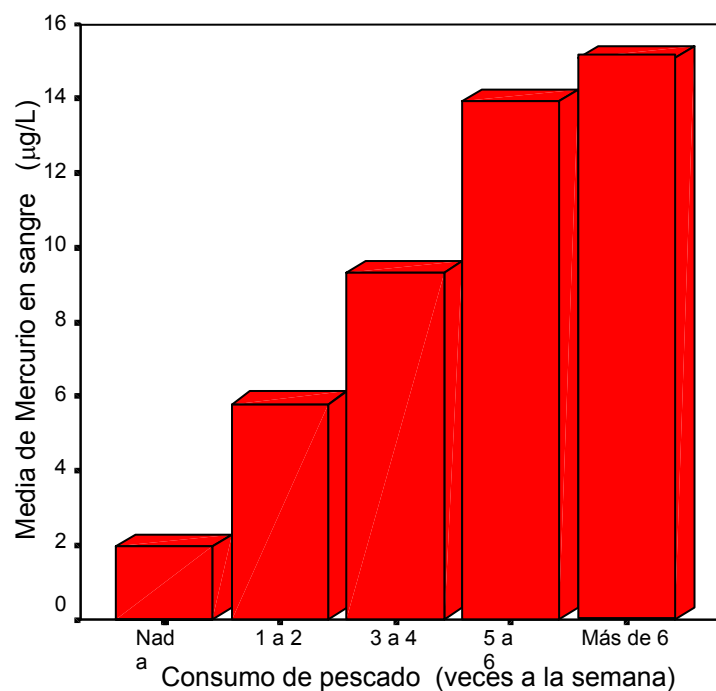


Figura I.7.- Aumento de la media de la concentración de mercurio en el grupo Control a medida que aumenta el consumo de pescado.

Tabla I.9.- Concentración de mercurio en sangre en el grupo Control en función de la frecuencia en el consumo a la semana de pescado.

Consumo de pescado (veces/semana)	Mercurio en sangre (µg/L)							
	N	Media	Mediana	Desviación típica	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Nada	5	2,0	1,9	1,452	0,2	3,8	0,7	4,3
1 a 2 veces	94	5,8	5,3	3,357	5,1	6,5	1,0	15,6
3 a 4 veces	56	9,3	7,0	6,994	7,5	11,2	0,7	32,3
5 a 6 veces	18	13,9	11,5	9,911	9,0	18,8	4,0	38,3
Más de 6 veces	6	15,1	8,5	17,055	2,8	33,0	3,9	49,0
Total	179	7,9	6,2	6,928	6,9	8,9	0,7	49,0

Puesto que la prueba de Levene de homogeneidad de varianzas muestra una diferencia estadísticamente significativa entre los distintos grupos de consumo de pescado ($p < 0,001$), la comparación de los mismos se realiza con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis resultando una diferencia estadísticamente significativa ($\chi^2 = 31,685$; $p < 0,001$) entre los mismos.

En la figura I.8 se puede observar con más claridad la diferente distribución del mercurio sanguíneo en los distintos grupos de frecuencia en el consumo de pescado del grupo Control.

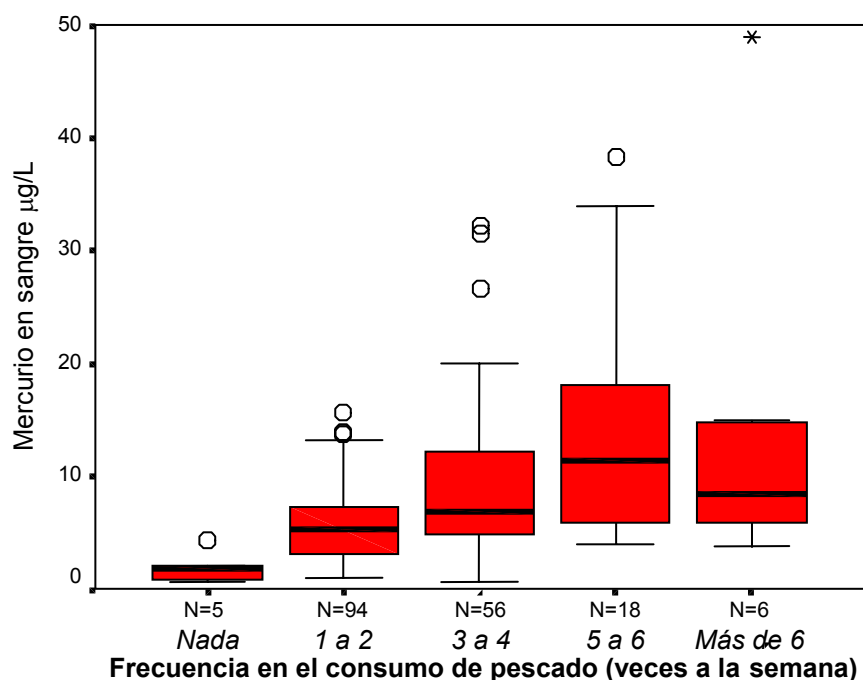


Figura I.8.- Representación por diagramas de caja de las distintas distribuciones de la concentración de mercurio en sangre en los grupos de frecuencia en el consumo de pescado.

Aunque el mercurio orgánico se encuentra especialmente concentrado en los hematíes (90) (163) (270) (383) (497) (532) (564), no se observa correlación estadísticamente significativa entre el mercurio sanguíneo y el número de eritrocitos. (ver Tabla I.10).

Tabla I.10.- Correlación entre las variables: mercurio sanguíneo, eritrocitos, relación peso y talla y edad en el Grupo Control.

		Mercurio en sangre	Eritrocitos	Relación peso/talla	Edad
Correlación de Pearson	Mercurio en sangre	1	0,095	0,056	0,285**
	Eritrocitos	0,095	1	0,265**	-0,226**
	Relación peso/talla	0,056	0,265**	1	0,090
	Edad	0,285**	-0,226**	0,090	1
Significación (bilateral)	Mercurio en sangre	,	0,245	0,479	<0,001
	Eritrocitos	0,245	,	0,002	0,008
	Relación peso/talla	0,479	0,002	,	0,255
	Edad	<0,001	0,008	0,255	,
Número de casos	Mercurio en sangre	184	151	164	170
	Eritrocitos	151	152	133	138
	Relación peso/talla	164	133	164	163
	Edad	170	138	163	170

** La correlación es significativa al 99%

Si se aplica un modelo de regresión lineal en pasos sucesivos con la variable dependiente concentración de mercurio en sangre y como variables independientes todas aquellas en las que ha aparecido cierta correlación e incluyendo también como variables independientes el consumo de tabaco y el número de empastes por su posible relación con el resto de variables, las variables excluidas, por no tener una significación estadística “p” menor de 0,05, son la concentración de cadmio en sangre, el número de empastes de amalgama y el consumo de tabaco. El modelo estadísticamente significativo resultante en el análisis de varianzas ANOVA es el que se observa en la Tabla I.11.

Tabla I.11.- Regresión lineal en pasos sucesivos con la concentración de mercurio en sangre como variable dependiente.

	Variables independientes	B	t	Significación
Incluidas	(Constante)	-10,038	-4,135	Menor de 0,001
	Frecuencia consumo de pescado	2,927	5,032	Menor de 0,001
	Selenio en sangre	0,082	4,625	Menor de 0,001
	Edad	0,085	2,798	0,006
Excluidas	Número de empastes de amalgama		-1,053	0,295
	Cadmio en sangre		-1,374	0,173
	Frecuencia consumo tabaco		-0,323	0,747

ANOVA de la regresión con la variable dependiente: Mercurio en sangre

gl	F	Significación
3	26,225	<0,001**

2.- URINARIO

La media aritmética en el grupo Control fue de 2,0 $\mu\text{g/g}$ CR con una desviación estándar de 2,168 y el número de casos válidos $N=140$. El 95% de los casos del grupo Control se encuentran por debajo de 6,2 $\mu\text{g/g}$ CR. Si se excluyen los casos con un valor por encima de 1,5 veces la amplitud intercuartil, también denominados valores extremos o “outliers”, el 95% de los casos se encuentran por debajo de 4,3 $\mu\text{g/g}$ CR. La distribución se representa mediante un histograma en la figura I.9 o con un diagrama de cajas en la figura I.10.

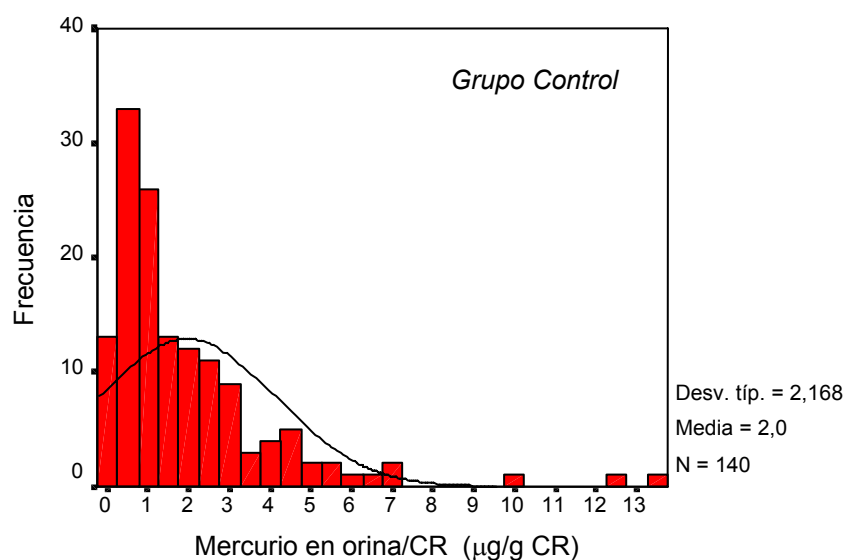


Figura I.9.- Representación de la distribución de la concentración de mercurio en orina, relacionada con la creatinina, en el grupo control.

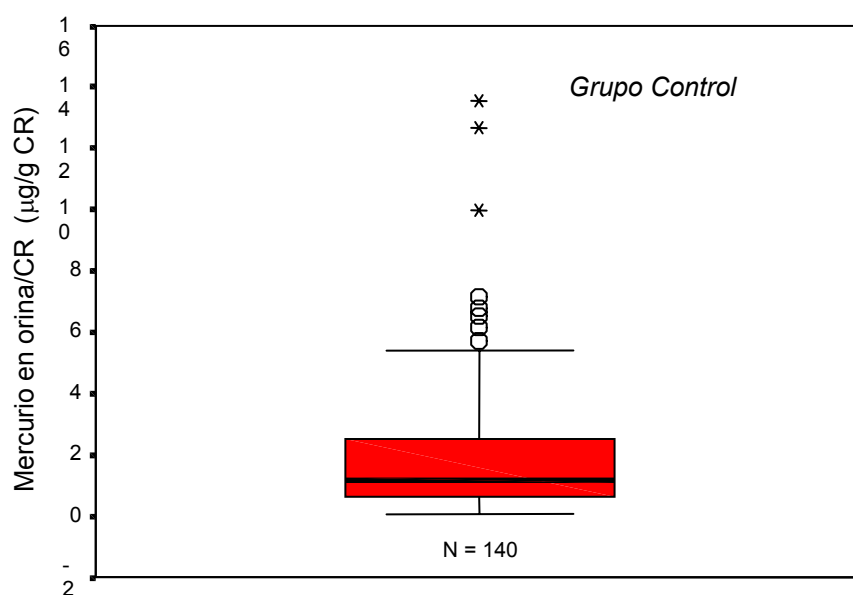


Figura I.10.- Distribución de diagrama de caja de la concentración de mercurio en orina, corregida con la creatinina, en el grupo control.

No se observa diferencia estadísticamente significativa para la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina entre los hombres (N= 93; $\bar{0}$ =1,979; SD= 2,379) y mujeres (N= 44; $\bar{0}$ =1,896; SD= 1,680) del grupo Control (ver Tabla I.12).

Tabla I.5.- Prueba “t” de comparación de medias de Student-Fisher para concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina en los hombres y mujeres del grupo Control.

Prueba de Levene para la igualdad de varianzas			Prueba T para la igualdad de medias					
	F	Sig.	t	gl	Sig.	Diferencia de medias	Intervalo de confianza para la media	
							Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	0,850	0,358	0,206	135	0,837	0,08	-0,707	0,871
No se han asumido varianzas iguales			0,232	114,94	0,817	0,08	-0,618	0,782

Como se observa en la tabla I.13, frente a las variables de edad, peso, talla, relación peso y talla, número de cigarrillos fumados al día, número de empastes de amalgama y consumo de pescado, tan sólo existe correlación entre la concentración de mercurio en

orina en el grupo control y la frecuencia en el consumo de pescado (N= 137; R=0,282; $p<0,001$).

Tabla I.13.- Correlación entre las variables: mercurio sanguíneo, mercurio urinario relacionado con creatinina, edad, relación peso y talla, número de empastes de amalgamas, el consumo de cigarrillos diario y el consumo de pescado a la semana en el Grupo Control.

		Hg Sangre	Hg Orina/CR	Edad	Peso/talla	Número empastes amalgama	Número cigarrillos al día	Pescado a la semana
Correlación de Pearson	Hg Sangre	1	0,416**	0,285**	0,056	-0,114	-0,217**	0,438**
	Hg Orina/CR	0,416**	1	0,089	-0,092	0,091	-0,028	0,282**
	Edad	0,285**	0,089	1	0,090	-0,020	-0,308**	0,251**
	Peso/talla	0,056	-0,092	0,090	1	0,002	-0,001	-0,069
	Amalgamas	-0,114	0,091	-0,020	0,002	1	0,141	-0,060
	Cigarrillos al día	-0,217**	-0,028	-0,308**	-0,001	0,141	1	-0,145
	Pescado a la semana	0,438**	0,282**	0,251**	-0,069	-0,060	-0,145	1
Significación (bilateral)	Hg Sangre	,	<0,001	<0,001	0,479	0,253	0,004	<0,001
	Hg Orina/CR	<0,001	,	0,316	0,305	0,416	0,745	0,001
	Edad	<0,001	0,316	,	0,255	0,850	<0,001	0,001
	Peso/talla	0,479	0,305	0,255	,	0,989	0,991	0,381
	Amalgamas	0,253	0,416	0,850	0,989	,	0,159	0,548
	Cigarrillos al día	0,004	0,745	<0,001	0,991	0,159	,	0,056
	Pescado a la semana	<0,001	0,001	0,001	0,381	0,548	0,056	,
Número de casos	Hg Sangre	184	140	170	164	102	176	179
	Hg Orina/CR	140	140	130	125	82	134	137
	Edad	170	130	170	163	93	167	169
	Peso/talla	164	125	163	164	90	161	163
	Amalgamas	102	82	93	90	102	101	102
	Cigarrillos al día	176	134	167	161	101	176	175
	Pescado a la semana	179	137	169	163	102	175	179

** Significativo al 99%

Al encontrarse relacionadas la edad y el consumo de pescado (N=169; R=0,251; $p=0,001$), la correlación entre consumo de pescado con el mercurio en orina corregido con la creatinina puede deberse a la relación entre la frecuencia en el consumo de pescado y la edad. Para intentar evitar la influencia de la edad en la relación mercurio en orina y consumo de pescado se divide la variable mercurio en orina corregida con creatinina con la variable edad. La variable obtenida no correlaciona significativamente ($p=0,072$, R=0,158) con la variable frecuencia en el consumo de pescado. Puesto que podría suceder lo mismo con la relación existente entre el mercurio sanguíneo, también correlacionado con la edad, y el consumo de pescado, se procede de la misma manera,

es decir, se divide la variable mercurio en sangre con la variable edad. En este último caso, la variable resultante, mercurio sanguíneo/edad, sigue manteniendo una correlación estadísticamente significativa con el consumo de pescado ($N=169$; $R=0,341$; $p<0,001$) (ver Tabla I.14).

Tabla I.14 Correlación entre las variables: mercurio en sangre, relación entre mercurio sanguíneo y la variable edad, frecuencia en el consumo de pescado, mercurio en orina corregido con la creatinina y la edad del grupo Control, en la que se observa la desaparición de la correlación consumo de pescado y el mercurio en orina cuando esta última variable se divide o relaciona con la variable edad.

		Mercurio en sangre	Relación mercurio sangre y edad	Frecuencia consumo pescado	Mercurio en orina/CR	Relación Mercurio orina y la edad	Edad
Correlación de Pearson	Mercurio en sangre	1	0,858**	0,438**	0,416**	0,319**	0,285**
	Relación mercurio sangre y edad	0,858**	1	0,341**	0,376**	0,405**	-0,122
	Frecuencia consumo pescado	0,438**	0,341**	1	0,282**	0,158	0,251**
	Mercurio en orina/CR	0,416**	0,376**	0,282**	1	0,910**	0,089
	Relación Mercurio orina y la edad	0,319**	0,405**	0,158	0,910**	1	-0,183*
	Edad	0,285**	-0,122	0,251**	0,089	-0,183*	1
Significación (bilateral)	Mercurio en sangre	,	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Relación mercurio sangre y edad	<0,001	,	<0,001	<0,001	<0,001	0,113
	Frecuencia consumo pescado	<0,001	<0,001	,	0,001	0,072	0,001
	Mercurio en orina/CR	<0,001	<0,001	0,001	,	<0,001	0,316
	Relación Mercurio orina y la edad	<0,001	<0,001	0,072	<0,001	,	0,037
	Edad	<0,001	0,113	0,001	0,316	0,037	,
Número de casos	Mercurio en sangre	184	170	179	140	130	170
	Relación mercurio sangre y edad	170	170	169	130	130	170
	Frecuencia consumo pescado	179	169	179	137	130	169
	Mercurio en orina/CR	140	130	137	140	130	130
	Relación Mercurio orina y la edad	130	130	130	130	130	130
	Edad	170	170	169	130	130	170

** La correlación es significativa al 99%

* La correlación es significativa al 95%

Aparece una correlación positiva importante entre la concentración sanguínea y la urinaria (N=140; R=0,416; p<0,001). Si se estudian las variables mercurio sanguíneo y mercurio en orina corregido con creatinina con un modelo de regresión lineal se observa un coeficiente de determinación de 0,173 con una significación estadística p<0,001, como se observa en la figura I.11.

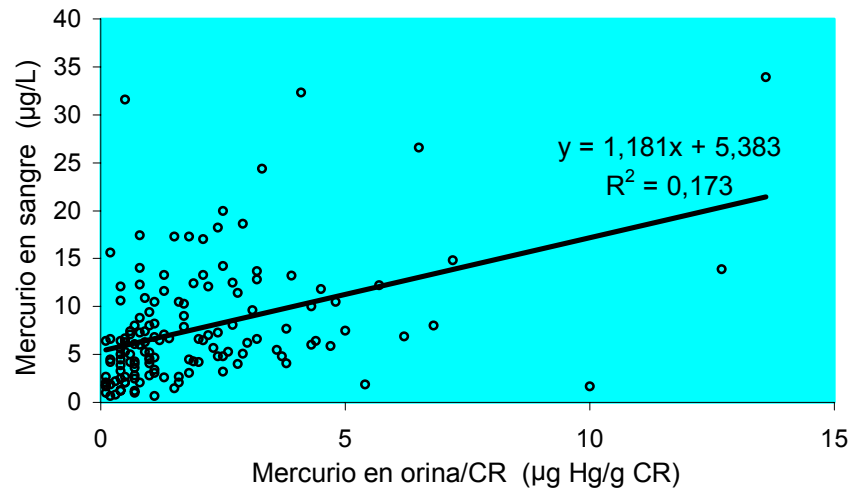


Figura I.11.- Representación del mercurio sanguíneo frente al mercurio en orina corregido con creatinina y la recta de regresión obtenida

II.- EXPOSICIÓN AL MERCURIO EN LOS DISTINTOS GRUPOS

1.- MERCURIO EN SANGRE

Puesto que la variable edad se encuentra relacionada con la concentración de mercurio en sangre, para comparar los grupos de trabajo de Auxiliares de Odontología y Dentistas con el grupo Control y entre sí, se consideran sólo los casos del grupo Control comprendidos entre los 23 años, caso de edad inferior en el grupo de auxiliares de odontología, y los 58 años, caso de edad superior en el grupo de dentistas. Las edades de los grupos resultantes pueden observarse en la Tabla II.1. De esta manera, comparamos la concentración de mercurio en sangre en los grupos cuyos índices estadísticos se indican en la Tabla II.2.

Tabla II.1.- Índices estadísticos de edad de los grupos Control Auxiliares de Odontología y Dentistas.

Índices estadísticos	Control	Auxiliares Odontología	Dentistas
Número de casos	121	28	23
Media	41,5	44,3	37,0
Desviación estándar	9,46	8,75	10,48
Mínimo	23	24	24
Máximo	58	58	51
Mediana	41	43	40

Tabla II.2.- Índices estadísticos de la concentración de mercurio en sangre, en microgramos por litro, para los distintos grupos de trabajo siempre que los casos se encontraran comprendidos entre las edades de 22 y 58 años, ambos exclusive.

Grupos	Número	Media	Desviación estándar	Mediana	Valor Máximo	Valor Mínimo
Control	121	7,4	5,87	6,1	33,9	0,7
Dentistas	28	9,6	4,80	8,5	23,0	3,0
Auxiliares de Odontología	23	7,1	2,38	6,7	14,5	2,5
Laboratorio	23	6,1	2,56	6,0	10,4	0,7
Clorocáusticas	15	14,4	6,65	7,0	14,0	4,0

Para poder comparar la concentración de mercurio en sangre en los tres grupos arriba indicados se les aplica la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, para muestras mayores de 50 casos, y la prueba de Shapiro-Wilks, para muestras menores de 50 casos. Las mencionadas pruebas permiten rechazar la hipótesis de que dichos grupos siguen una distribución normal, tanto en la variable concentración de mercurio en sangre, como en la variable logaritmo de la concentración de mercurio en sangre, como se puede observar en la Tabla II.3.

Tabla II.3.- Pruebas de normalidad Kolmogorov-Smirnov y de Shapiro-Wilks, para muestras mayores y menores de 50 casos, respectivamente, para la concentración de mercurio en sangre y el logaritmo de la concentración de mercurio en sangre en los grupos de edad restringida entre 22 y 59, ambos exclusive, denominados: Control, Auxiliares de Odontología y Dentistas.

	Profesión	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilks		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Mercurio en sangre (22<edad<59)	Grupo Control	0,169	121	<0,000**			
	Dentistas				0,907	28	0,019*
	Auxiliares Odontología				0,921	23	0,074
Logaritmo del mercurio en sangre (22<edad<59)	Grupo Control	0,083	121	0,039*			
	Dentistas				0,986	28	0,960
	Auxiliares Odontología				0,948	23	0,336

(*) Se rechaza la hipótesis nula con una probabilidad del 95%

(**) Se rechaza la hipótesis nula con una probabilidad del 99%

Por el teorema central del límite se podría utilizar pero la prueba de homogeneidad de varianzas indica una diferencia estadísticamente significativa entre ellos como se observa en la Tabla II.4.

Tabla II.4.- Prueba de homogeneidad de varianzas entre los grupos Control, Auxiliares de odontología y Dentistas.

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Significación
Logaritmo del mercurio en sangre	7,918	2	235	Menor de 0,001

De esta manera, para comparar los grupos indicados se recurre a la prueba, no paramétrica, de Kruskal-Wallis. Dicha prueba permite rechazar, con una probabilidad del 89%, la hipótesis de igualdad entre los tres grupos ($\chi^2=8,946$; $gl=2$; $p=0,011$). Para comprobar cuál de los grupos provoca el resultado significativo se comparan los grupos entre sí con la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney, dando como resultado que, para la variable concentración de mercurio en sangre:

- El grupo Control y el grupo Dentistas tienen una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,005$).
- No se puede rechazar la hipótesis de igualdad entre los grupos Control y Auxiliares de Odontología ($p=0,289$)
- El grupo Auxiliares de Odontología y el grupo Dentistas tienen una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,046$).

El grupo de trabajo Laboratorio puede compararse también con el grupo Control con la misma edad restringida que la utilizada para compararse con los grupos dentistas y auxiliares de odontología, ya que tiene un rango de edad similar que se encuentra entre 23 y 51 años de edad, aunque con una media de edad algo inferior (30,8 años). No aparece ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los mismos al aplicar la prueba de U de Mann-Whitney ($p=0,816$). Así mismo, y como era de esperar, la misma prueba tampoco refleja diferencia estadísticamente significativa entre los grupos Auxiliares de Odontología y Laboratorio ($p=0,375$).

El grupo Clorocáusticas, cuya concentración media de mercurio en sangre es más elevada que en el resto de los grupos, mantiene diferencias estadísticamente significativas con todos ellos.

Los índices estadísticos de concentración de mercurio en sangre en los distintos grupos, todos ellos restringidos entre las edades arriba indicadas de 22 y 59 años, ambos exclusive, se indican en la Tabla II.2, pudiéndose comparar la distribución de los distintos grupos mediante diagramas de caja en la figura II.1.

Puesto que la frecuencia en el consumo de pescado influye en la concentración de mercurio en sangre se comparan los consumos de pescado de los diferentes grupos, no apreciando grandes diferencias entre ellos, si, como se puede observar en la Tabla II.6. Al aplicar un prueba de chi-cuadrado entre los tres grupos no se observa un diferencia estadísticamente significativa entre ellos ($\chi^2=9,422$; $gl=8$; $p=0,308$).

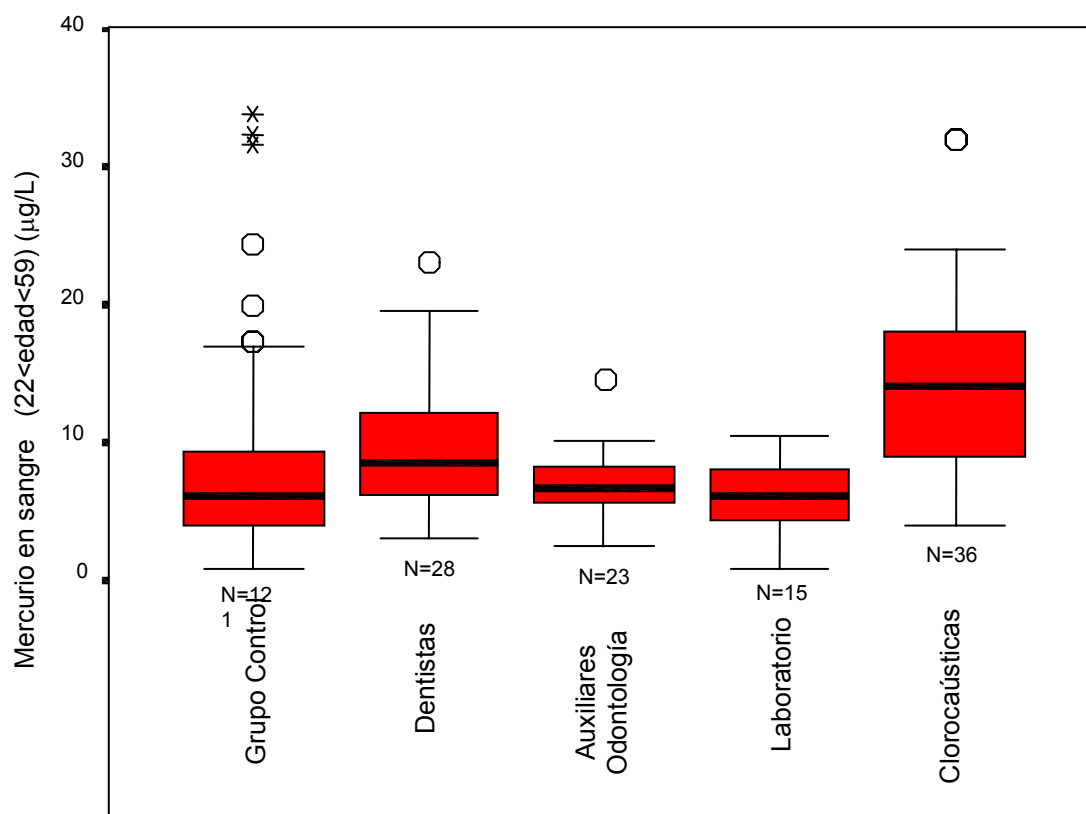


Figura II.1.- Diagramas de caja que representan la distribución de las variables de la concentración de mercurio en sangre de los distintos grupos, para edades entre 22 y 59 años.

Tabla II.5.- Frecuencia en el consumo de pescado en los distintos grupos analizados.

Consumo de pescado	Grupo Control		Dentistas		Auxiliares Odontología		Laboratorio		Clorocaústicas	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Nada	5	2,8%	1	3,4%					2	4,8%
1 a 2 veces	94	52,5%	14	48,3%	8	34,8%	11	73,3%	26	61,9%
3 a 4 veces	56	31,3%	13	44,8%	13	56,5%	2	13,3%	11	26,2%
5 a 6 veces	18	10,1%	1	3,4%	2	8,7%	1	6,7%	3	7,1%
Más de 6 veces	6	3,4%					1	6,7%		

2.- MERCURIO EN ORINA

Los índices estadísticos de concentración de concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina en los distintos grupos se indican en la Tabla II.7, pudiéndose comparar la distribución de los distintos grupos mediante diagramas de caja en la figura II.2.

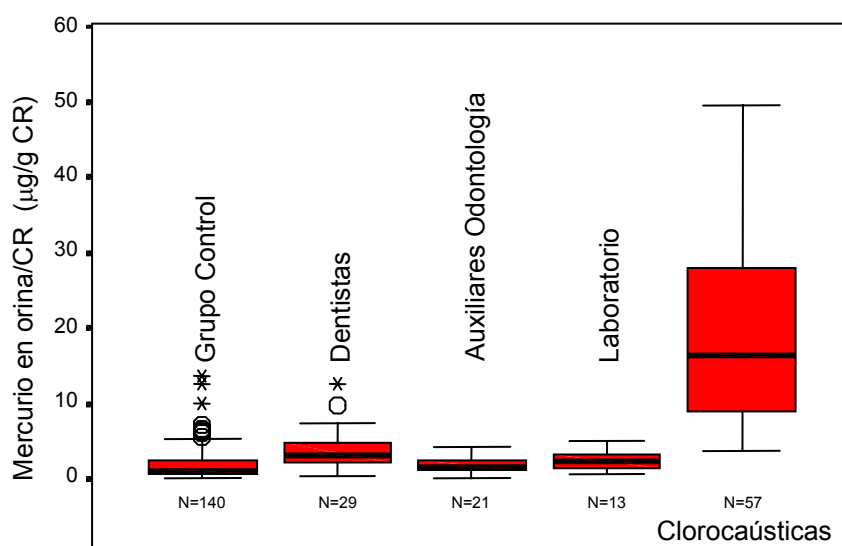


Figura II.2.- Diagramas de caja que representan la distribución de las variables de la concentración de mercurio en sangre de los distintos grupos,

Tabla II.6.- Índices estadísticos de la concentración de concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina, en microgramos de mercurio por gramo de creatinina, para los distintos grupos de trabajo.

Grupos	Número	Media (µg/g CR)	Desviación estándar	Mediana (µg/g CR)	Valor Máximo	Valor Mínimo
Control	140	2,0	2,168	1,1	0,1	13,6
Dentistas	29	3,9	2,593	3,1	3,4	12,3
Auxiliares de Odontología	21	1,9	0,949	1,6	0,1	4,2
Laboratorio	13	2,4	1,265	2,3	0,8	5,0
Clorocaústicas	57	19,4	13,139	16,5	3,7	49,6

Para comparar la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina en los distintos grupos de trabajo se realizan las pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y de Shapiro-Wilks, para muestras mayores y menores de 50 casos, respectivamente, con el objeto de que, dado de que hay grupos de menos de 30 muestras, la prueba T de comparación de medias de Student-Fisher requiere que las muestras sigan una distribución normal. Puesto que tanto el grupo Control, como el grupo Dentistas y el grupo Clorocáusticas las citadas pruebas de normalidad indican una diferencia estadística significativa con el supuesto de normalidad (ver Tabla II.8), se procede al cambio de variable concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina por el logaritmo de la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina, dado que el estudio de los gráficos de normalidad hacen presuponer que dicho cambio puede resultar en una variable que siga la ley normal. La variable transformada en el logaritmo de la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina sólo tiene una diferencia estadísticamente significativa con la hipótesis de normalidad de la prueba de Shapiro-Wilks en el caso del grupo Auxiliares de Odontología, como se puede observar en la Tabla II.8.

Tabla II.7.- Pruebas de normalidad Kolmogorov-Smirnov y de Shapiro-Wilks, para muestras mayores y menores de 40 casos, respectivamente, para la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina y el logaritmo de la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina en los grupos de trabajo.

Variable	Grupo	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilks		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Mercurio en orina/CR	Grupo Control	0,191	140	<0,001**			
	Dentistas				0,834	29	<0,010**
	Auxiliares Odontología				0,961	21	0,527
	Laboratorio				0,946	13	0,519
	Clorocáusticas	0,142	57	0,006**			
Logaritmo de mercurio en orina/CR	Grupo Control	0,049	140	0,888			
	Dentistas				0,935	29	0,091
	Auxiliares Odontología				0,802	21	<0,010**
	Laboratorio				0,953	13	0,607
	Clorocáusticas	0,079	57	0,871			

(**) Se rechaza la hipótesis nula con una probabilidad del 99%

Para comparar los grupos, relacionados entre sí, Auxiliares de Odontología y Dentistas con el grupo Control, se procede a utilizar una prueba no paramétrica como es la de Kruskal-Wallis. Aparece una diferencia estadísticamente significativa, con una probabilidad mayor del 99,9%, como resultado de aplicar dicha prueba a la variable concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina en los mencionados

grupos ($\chi^2=26,393$; $gl=2$; $p<0,001$). Permanece esta diferencia estadísticamente significativa cuando se restringen los casos al mismo intervalo de edades que el aplicado en la variable concentración de mercurio en sangre ($\chi^2=24,566$; $gl=2$; $p<0,001$). En el caso concreto del grupo Control y grupo Dentistas también aparece una diferencia estadísticamente significativa, con una probabilidad mayor del 99,9%, entre las medias del logaritmo de la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina, al aplicar una prueba de comparación de medias T de Student-Fisher, como se puede apreciar en la Tabla II.9. Permanece esta diferencia estadísticamente significativa cuando se restringen los casos al mismo intervalo de edades que el aplicado en la variable concentración de mercurio en sangre ($t=-5,739$; $gl=63,15$; $p<0,001$).

Tabla II.8.- Prueba de comparación de medias T de Student-Fisher para el logaritmo de la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina en los grupos Control y Dentistas.

Prueba de Levene para la igualdad de varianzas			Prueba T para la igualdad de medias					
	F	Sig.	t	gl	Sig.	Diferencia de medias	Intervalo de confianza de la media	
							Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	10,199	0,002**	-4,818	167	<0,001**	-0,4374	-0,6166	-0,2582
No se han asumido varianzas iguales			-6,515	62,58	<0,001**	-0,4374	-0,5716	-0,3032

(**) Se rechaza la hipótesis nula con una probabilidad del 99%

Para la comparación de medias entre los grupos Auxiliares de Odontología y Dentistas, dado que ni la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina, ni el logaritmo de la misma siguen una distribución normal, como se ha indicado anteriormente, se utiliza la prueba no paramétrica U de Mann-Whitman. Dicha prueba refleja una diferencia estadísticamente significativa entre ambos, con una probabilidad mayor del 99,9%, como se puede observar en la Tabla II.10. Sin embargo, como se puede apreciar en la misma Tabla, procediendo de la misma manera con los grupos Auxiliares de Odontología y Control, no se observa diferencia estadísticamente significativa entre ambos. Permanecen estas diferencias estadísticamente significativas cuando se restringen los casos al mismo intervalo de edades que el aplicado en la variable concentración de mercurio en sangre.

Tabla II.9.- Prueba no paramétrica de U de Mann-Whitman para la comparación de la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina del grupo Auxiliares de Odontología con los grupos Dentistas y Control.

Grupos	U de Mann-Whitney	W de Wilcoxon	Z	Significación
Grupo Auxiliares de Odontología y grupo Dentistas	119	350	-3,646	Menor de 0,001**
Grupo Auxiliares de Odontología y grupo Control	1163	11033	1,541	0,123

(**) Se rechaza la hipótesis nula con una probabilidad del 99%

La mayor concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina en el grupo Dentistas no parece que se puede achacar a un mayor consumo de pescado puesto que, como se observa en la Tabla II.6, la frecuencia en el consumo de pescado es mayor en el grupo Auxiliares de Odontología que en el grupo Dentistas, ni tampoco a un mayor número de empastes de amalgama puesto que una prueba de chi-cuadrado entre los grupos Control, Dentistas y Auxiliares de Odontología no muestra una diferencia estadísticamente significativa entre ellos ($\chi^2=6,852$; gl=8; p=0,553).

En los grupos Laboratorio y Control, la prueba de U de Mann-Whitman no refleja ninguna diferencia estadísticamente significativa entre las variables concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina, ni tampoco entre las mismas variables restringidas a las edades, mayor de 22 y menor de 59 años, anteriormente comentadas (ver Tabla II.11).

Tabla II.10.- Prueba no paramétrica de U de Mann-Whitman para los grupos Control y Laboratorio, en las variables concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina y la misma restringida a edades comprendidas entre 22 y 59 años, ambos exclusive.

Variable	U de Mann-Whitney	W de Wilcoxon	Z	Significación
Hg en orina /CR	613	10483	-1943	0,52
Hg en orina /CR (22<edad<59)	435	5385	-1894	0,58

Como era previsible, la prueba de T de Student-Fisher refleja una diferencia estadísticamente significativa, con un grado de significación mayor del 99,9%, entre las medias del logaritmo de la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina de los grupos Control y Clorocáusticas, como se puede observar en la Tabla II.12.

Tabla II.11.- Prueba T de comparación de medias de Student-Fisher para el logaritmo de la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina de los grupos Control y Clorocáusticas, con edades restringidas entre 22 y 59 años, ambos exclusive, y sin restricción de edad.

Variables	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias				Diferencia de medias
		F	Sig.	t	gl	Sig.	
Log. de Hg en orina /CR	Se han asumido varianzas iguales	7,216	0,008**	-16,394	195	<0,001**	-1,1119
	No se han asumido varianzas iguales			-19,220	151,71	<0,001**	-1,1119
Log. de Hg en orina /CR (22<edad<59)	Se han asumido varianzas iguales	0,850	0,358	-13,399	133	<0,001**	-1,0901
	No se han asumido varianzas iguales			-14,870	77,29	<0,001**	-1,0901

(**) Se rechaza la hipótesis nula con una probabilidad del 99%

III.- CADMIO

1.- SANGUÍNEO

La media aritmética en el grupo Control fue de $0,7 \mu\text{g/L}$ con una desviación estándar de $0,587$ y 186 el número de casos válidos. El 95% de los resultados son inferiores a $1,8 \mu\text{g/L}$. La distribución se representa mediante un histograma en la figura III.1 o con un diagrama de cajas en la figura III.2.

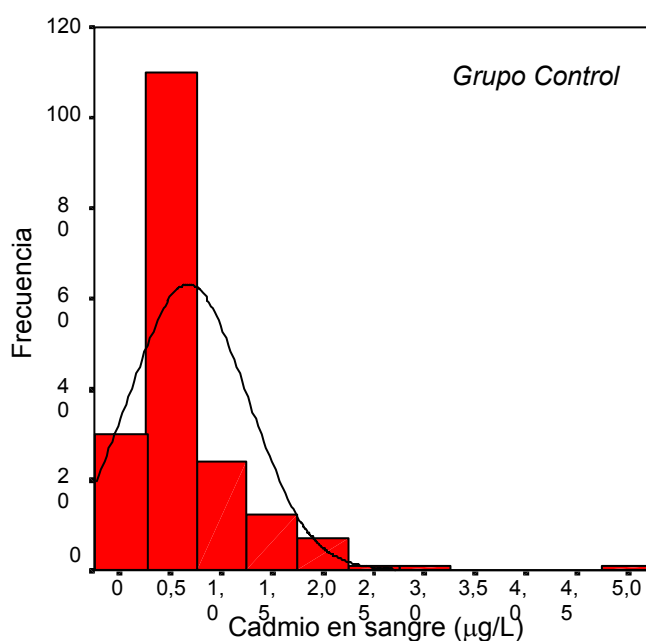


Figura III.1.- Histograma de la distribución de cadmio en sangre en el Grupo Control

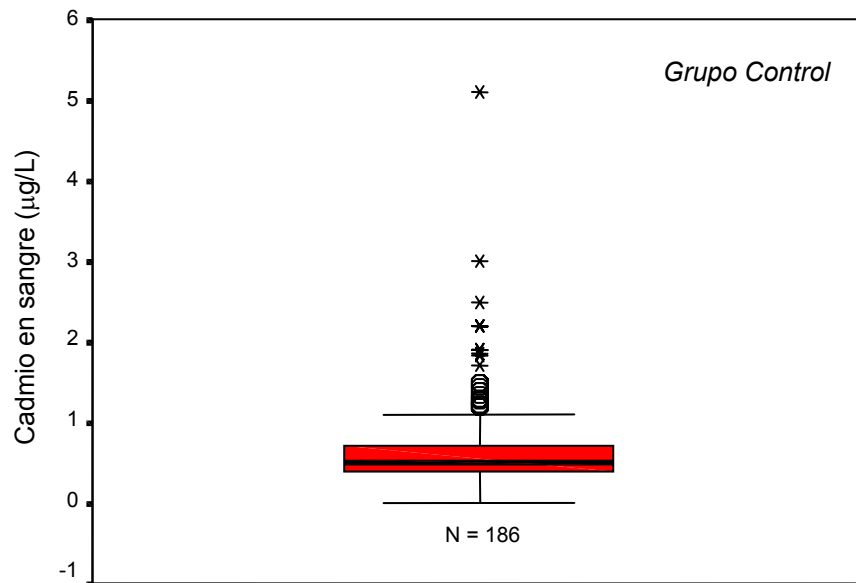


Figura III.2.- Representación de la distribución de la variable cadmio en sangre en el Grupo Control mediante un diagrama de cajas

Como se observa en la Tabla III.1, existe correlación positiva entre la concentración de cadmio en sangre en el grupo control y la variable fumador ($N=177$, $R=0,316$, $p<0,001$), así como con el número de cigarrillos fumados al día ($N=176$, $R=0,341$, $p<0,001$). Las mencionadas correlaciones no aparecen en el caso del cadmio en orina.

Tabla III.1.- Correlación entre las variables cadmio en sangre, cadmio en orina, fumador y número de cigarrillos al día.

		Cadmio en sangre	Cadmio en orina/CR	Fumador	Número de cigarrillos/día
Correlación de Pearson	Cadmio en sangre	1	0,303**	0,368**	0,393**
	Cadmio en orina/CR	0,303**	1	0,094	0,185*
	Fumador	0,368**	0,094	1	0,832**
	Número de cigarrillos/día	0,393**	0,185*	0,832**	1
Significación (bilateral)	Cadmio en sangre	,	<0,001	<0,001	<0,001
	Cadmio en orina/CR	<0,001	,	0,277	0,032
	Fumador	<0,001	0,277	,	<0,001
	Número de cigarrillos/día	<0,001	0,032	<0,001	,
Número de casos	Cadmio en sangre	186	140	177	176
	Cadmio en orina/CR	140	140	135	134
	Fumador	177	135	177	176
	Número de cigarrillos/día	176	134	176	176

** La correlación es significativa al 99%.

* La correlación es significativa al 95%.

Por otra parte, aplicando la prueba “t” de comparación de medias de Student-Fisher, la media de cadmio en sangre de los fumadores, $1,0 \mu\text{g/L}$ ($N=57$, $SD=0,841$) y la de los no fumadores del Grupo Control, $0,5 \mu\text{g/L}$ ($N=120$, $SD=0,326$), son estadísticamente diferentes ($p<0,001$). Por lo tanto, la distribución de la población en el caso del cadmio en sangre debe tener en cuenta la característica de ser fumador o no. De esta manera, la distribución de la variable cadmio en sangre en el grupo control sería la representada por las figuras III.3, III.4 y III.5.

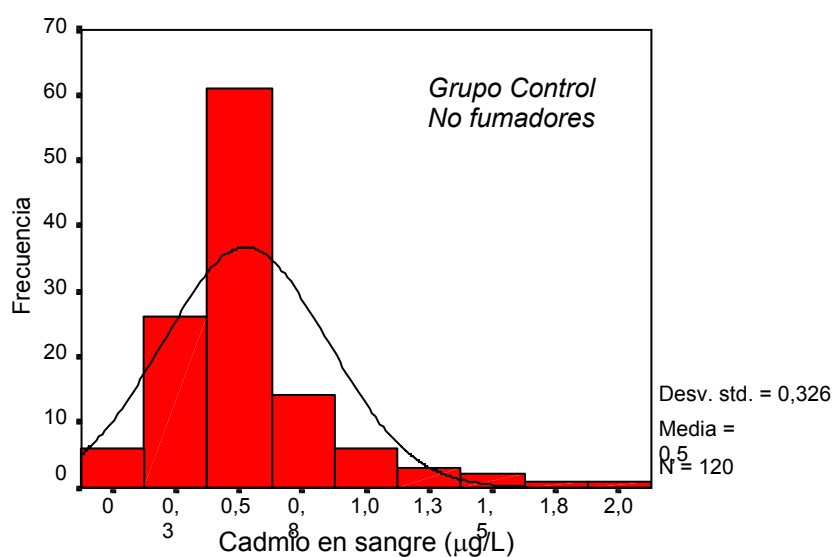


Figura III.3.- Histograma que representa la distribución de la variable cadmio en sangre para no fumadores del Grupo Control.

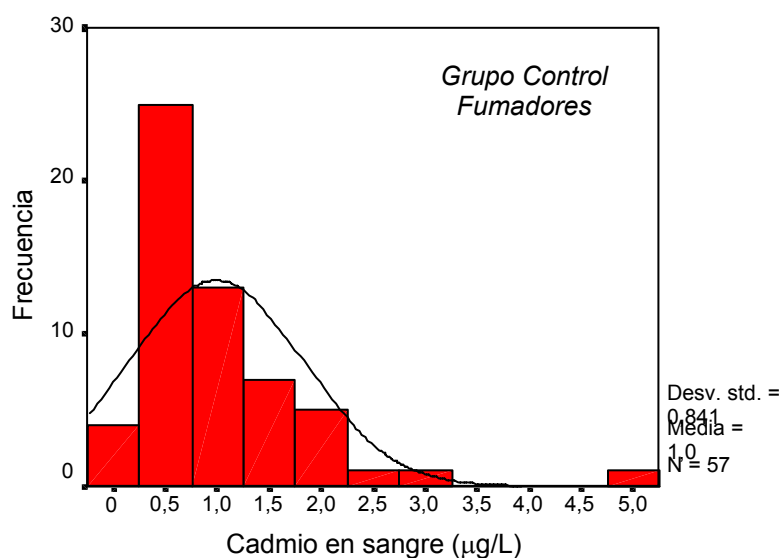


Figura III.4.- Histograma que representa la distribución de la variable cadmio en sangre para fumadores del Grupo Control.

En el caso de los no fumadores del grupo Control, el 95% de los casos se encuentran entre 0,1 $\mu\text{g/L}$ y 1,3 $\mu\text{g/L}$, mientras que para los fumadores el 95% de los casos se encuentran entre 0,2 $\mu\text{g/L}$ y 2,6 $\mu\text{g/L}$.

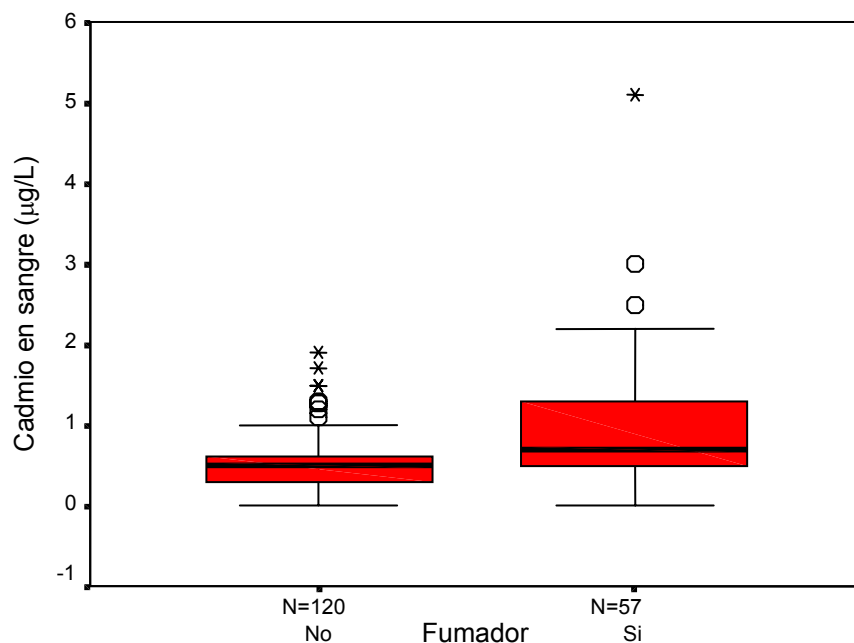


Figura III.5.- Representación de las distribuciones de cadmio en sangre para fumadores y no fumadores del Grupo Control.

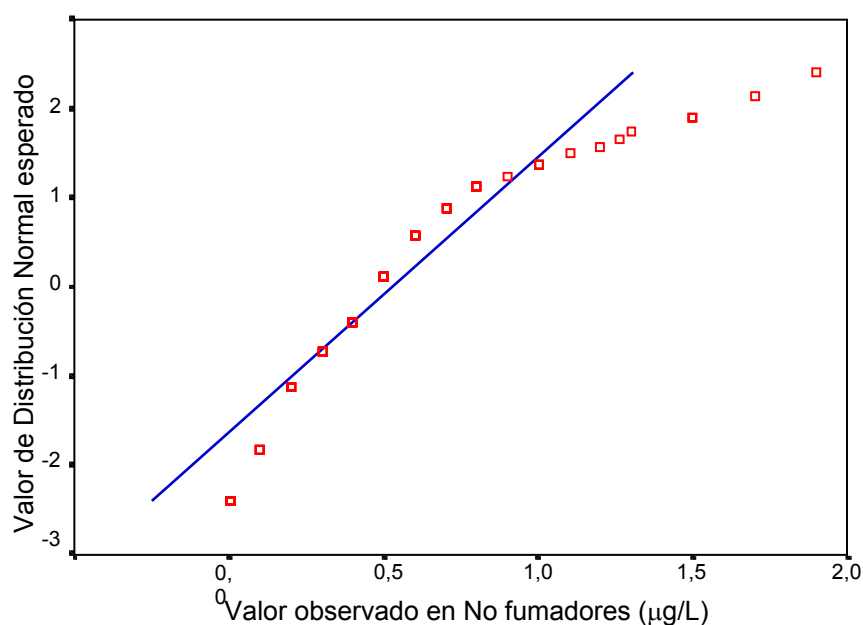


Figura III.6.- Diagrama de probabilidad normal de la concentración de cadmio en sangre en no fumadores. La línea azul representa la linealidad perfecta.

Observando el diagrama de probabilidad normal (figura III.6) se observa que la concentración de cadmio en sangre en los no fumadores no se distribuye de acuerdo a una ley Normal. Al transformar la variable en su logaritmo decimal, se observa en el diagrama de probabilidad normal de la figura III.7 que la nueva variable se acerca más a una distribución normal, aunque sigue sin distribuirse según una ley normal puesto que al aplicar una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov se puede descartar dicha

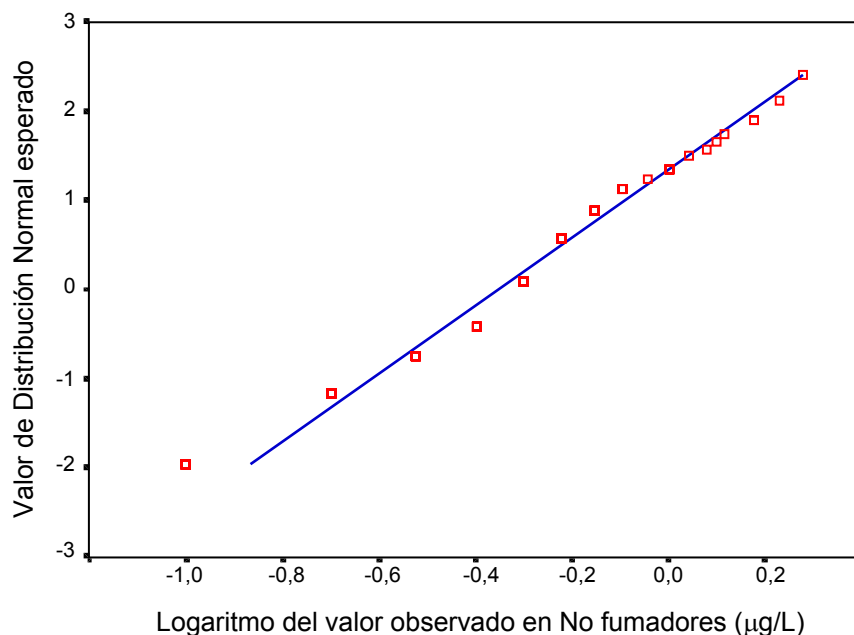


Figura III.7.- Diagrama de probabilidad normal del logaritmo de la concentración de cadmio en sangre en no fumadores. La línea azul representa la linealidad perfecta.

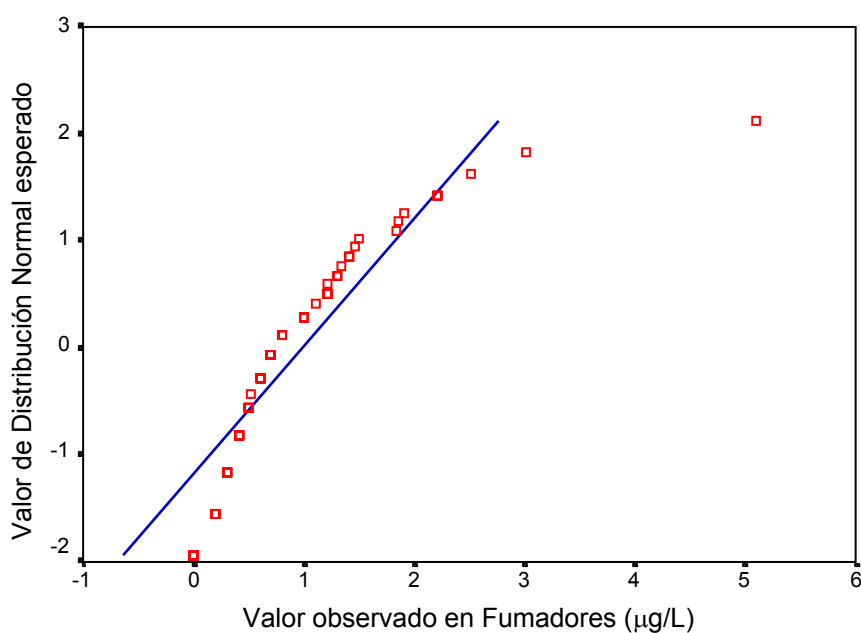


Figura III.8.- Diagrama de probabilidad normal de la concentración de cadmio en sangre en fumadores. La línea azul representa la linealidad perfecta.

hipótesis ($Z=1,819$; $p=0,003$).

En el caso del cadmio sanguíneo en los fumadores, sin embargo, no se puede descartar que la distribución transformada por el logaritmo decimal siga una ley normal ($Z=0,564$; $p=0,908$).

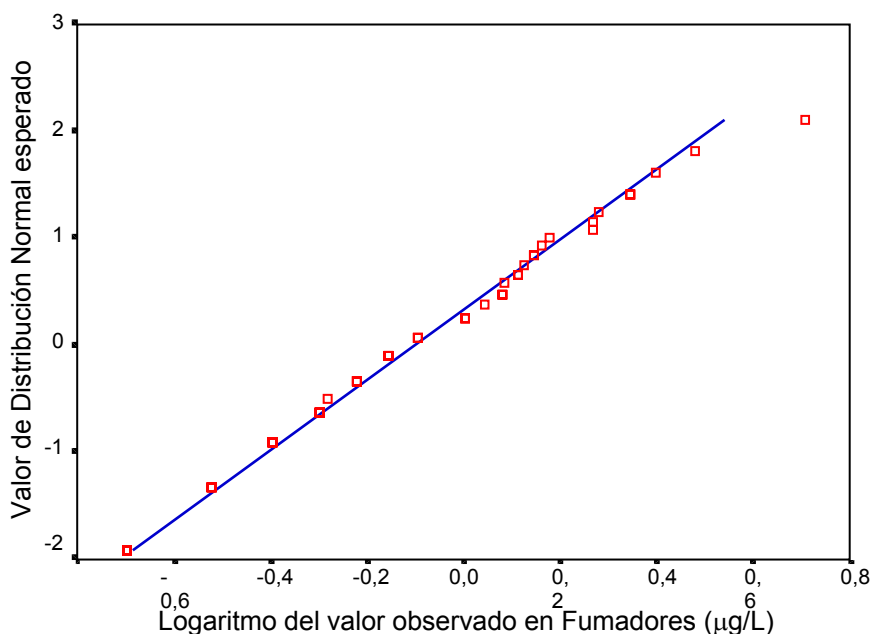


Figura III.9.- Diagrama de probabilidad normal del logaritmo de la concentración de cadmio en sangre en no fumadores. La línea azul representa la linealidad perfecta.

No existe correlación estadísticamente significativa entre el cadmio sanguíneo y las variables sexo, edad, relación peso y talla, frecuencia de consumo de pescado, eritrocitos y número de amalgama.

2.- URINARIO

La media aritmética en el grupo Control fue de $0,5 \mu\text{g Cd/g CR}$ con una desviación estándar de $0,4609$ y el número de casos válidos $N=140$. El 95% de los casos del grupo Control se encuentran entre $0,1 \mu\text{g/L}$ y $1,5 \mu\text{g/L}$. La diferencia de medias entre los no fumadores ($0,5 \mu\text{g Cd/g CR}$; $N=86$; $SD=0,4385$) y los fumadores ($0,6 \mu\text{g Cd/g CR}$; $N=49$; $SD=0,5068$) es pequeña, de tal manera que al efectuar un test “t” de comparación

de medias de Student-Fisher, la significación obtenida ($F=2,469$; $p=0,277$) no permite descartar la hipótesis de que las medias de ambos grupos sean iguales.

La distribución de los valores de la variable cadmio en orina corregido con creatinina en el grupo Control se representa mediante un histograma en la figura III.10

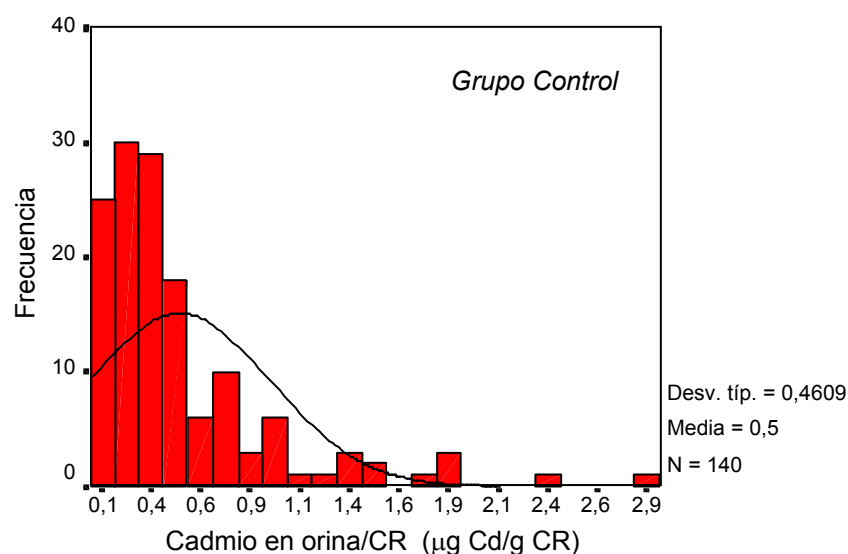


Figura III.10.- Histograma que representa la distribución de la variable cadmio en orina corregida con creatinina en el grupo Control.

o con un diagrama de cajas en la figura III.11.

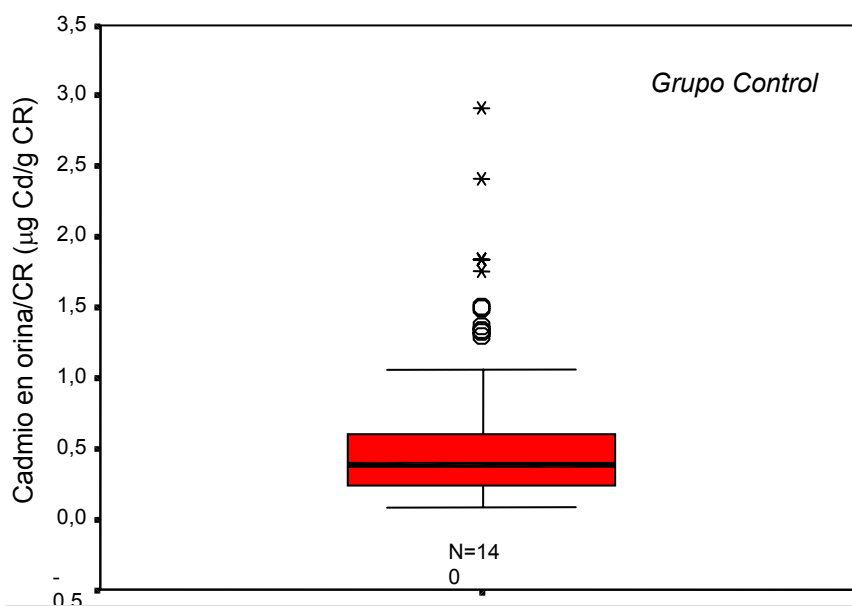


Figura III.12.- Diagrama de caja que representa la distribución de la variable mercurio en orina corregida con la creatinina en el grupo Control.

Al aplicar una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov se puede descartar con una probabilidad de más del 99,9% que la concentración de cobre en orina corregida con la creatinina siga una distribución normal (ver figura IV.7), aunque no se puede descartar que la cumpla la variable transformada por el logaritmo decimal ($Z=0,819$; $p=0,514$) (ver figura IV.8).

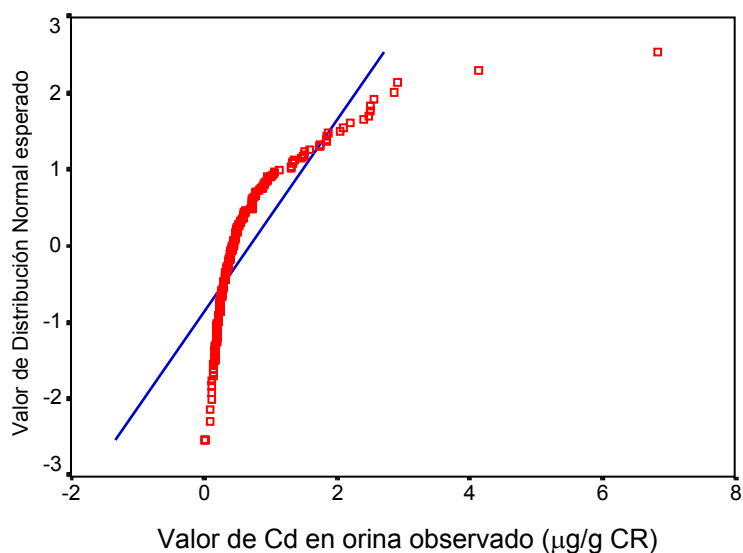


Figura IV.7.- Diagrama de probabilidad normal de la concentración de cadmio en orina. La línea azul representa la linealidad perfecta.

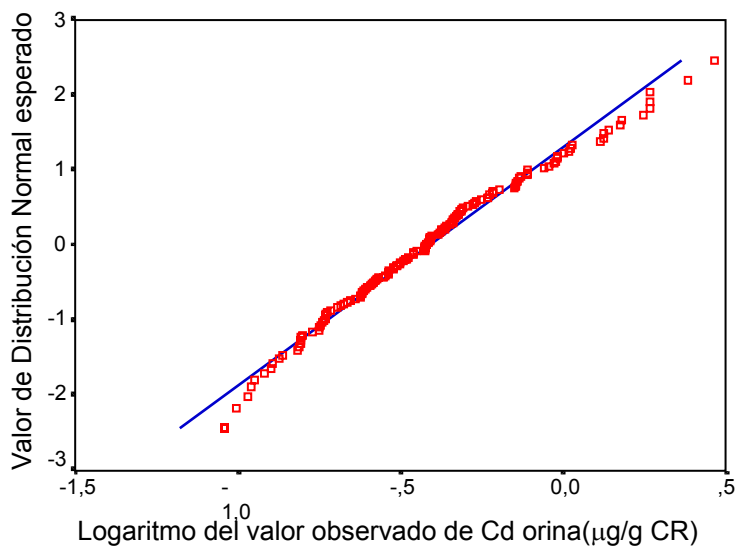


Figura IV.8.- Diagrama de probabilidad normal del logaritmo de la concentración de cadmio en orina. La línea azul representa la linealidad perfecta.

No existe correlación estadísticamente significativa entre el cadmio en orina corregido con la creatinina y las variables sexo, relación peso y talla, frecuencia de consumo de pescado y número de amalgamas.

La variable edad no se correlaciona de forma estadísticamente significativa con la concentración de cadmio en orina corregida con la creatinina. Sin embargo, cuando se distingue entre fumadores y no fumadores, aparece una correlación estadísticamente significativa en el grupo de fumadores ($N=45$; $r=0,367$; $p=0,013$), como se puede observar en la Tabla III.2.

Tabla III.2.- Correlación de Pearson entre las variables edad y la concentración de cadmio en orina corregida con la creatinina en los grupos fumadores, no fumadores y ambos.

	NO fumadores	Fumadores	Ambos grupos
Correlación de Pearson ("r")	-0,034	0,367*	0,078
Significación ("p")	0,757	0,013	0,377
Número de casos ("N")	84	45	130

* La correlación es significativa al 95%

La concentración de cadmio en sangre y la concentración de cadmio en orina corregida con la creatinina se encuentran correlacionadas en el grupo Control ($N=140$; $R=0,303$; $p<0,001$). Si se estudian las dos variables mencionadas con un modelo de regresión lineal se observa un coeficiente de determinación bajo de 0,093 con una significación estadística $p<0,001$ (ver figura III.13).

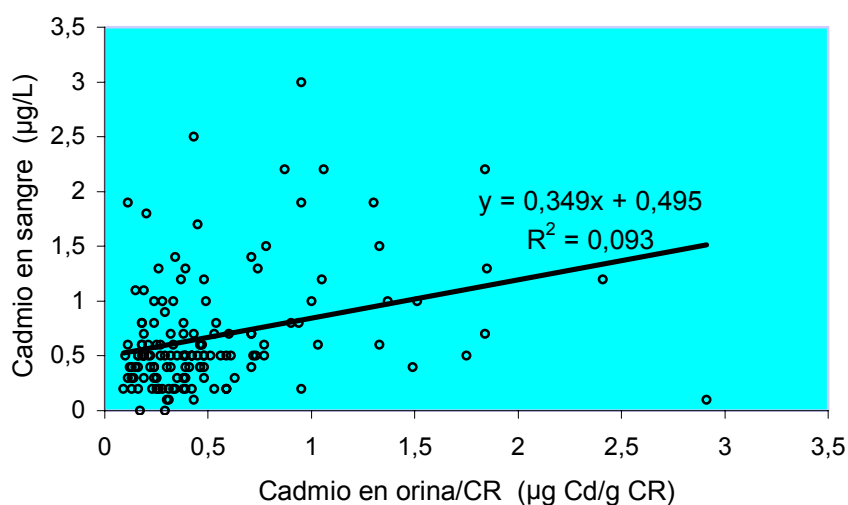


Figura III.13.- Representación del cadmio sanguíneo frente al cadmio en orina corregido con creatinina y la recta de regresión obtenida

IV.- COBRE

1.- SÉRICO

La concentración media de cobre sérico en el grupo Control es 111 $\mu\text{g/dL}$ con una desviación estándar de 25,75 y el número de casos válidos $N=186$. El 95% de los casos del grupo Control se encuentran entre 78 $\mu\text{g/dL}$ y 161 $\mu\text{g/dL}$. La distribución se representa mediante un histograma en la figura IV.1 o con un diagrama de cajas en la figura IV.2.

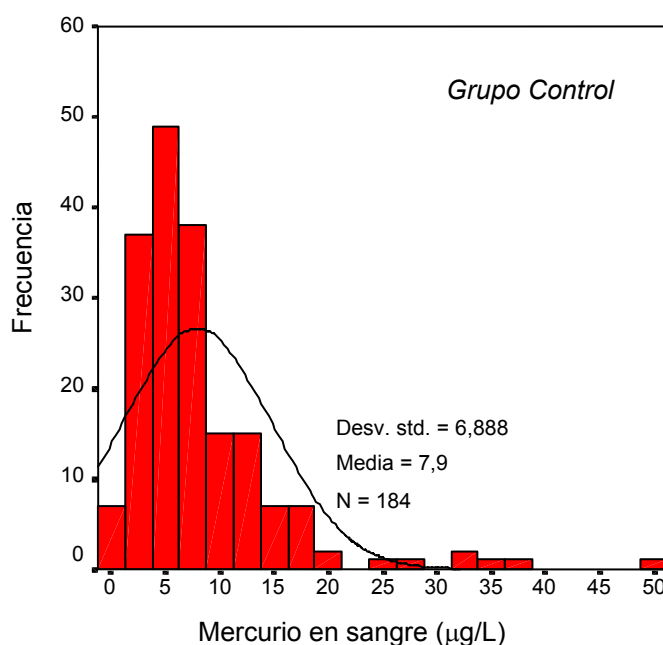


Figura IV.1.- Histograma que representa la distribución de las concentraciones de cobre en suero en el grupo Control.

Como se observa en la tabla \$, el cobre sérico del grupo Control tiene una correlación positiva estadísticamente significativa con el sexo ($N=182$; $R=0,292$; $p<0,001$) y una correlación negativa estadísticamente significativa con el número de eritrocitos en la sangre ($N=152$; $R=-0,256$; $p=0,001$). Puesto que el número de eritrocitos es superior en los hombre, se comprueba si la correlación entre el número de eritrocitos y la

concentración de cobre en suero sigue inalterable cuando se realiza en hombres y mujeres por separado. De esta manera, la citada correlación desaparece cuando se correlacionan las variables número de eritrocitos y concentración de cobre en suero en hombres y mujeres por separado, como se puede observar en la Tabla IV.1, por lo que la correlación con el número de eritrocitos se debía a la relación entre la concentración de cobre en suero y el sexo y el diferente número de eritrocitos entre ambos.

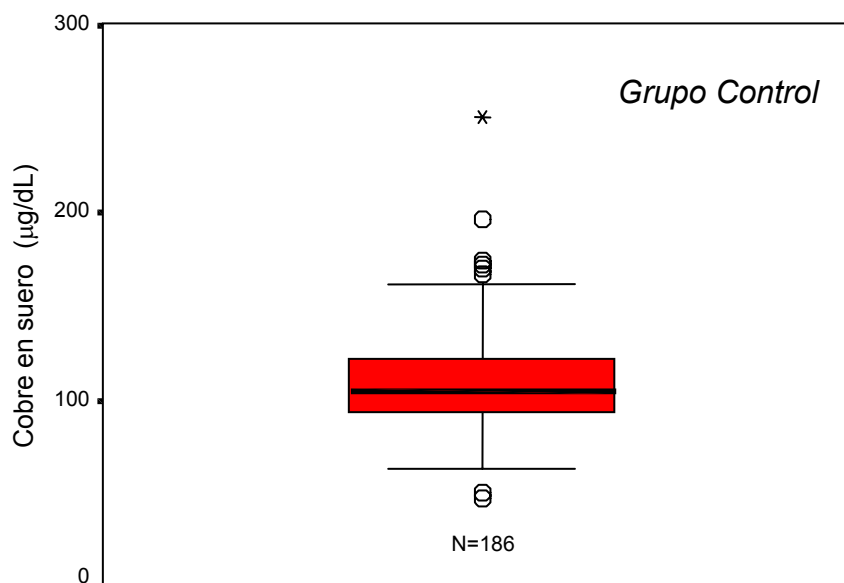


Figura IV.2.- Diagrama de cajas que representa la distribución de la concentración de cobre en suero en el grupo Control.

Tabla IV.1.- Correlación bivariada de Pearson entre las variables número de eritrocitos y la concentración de cobre en suero en todo el grupo Control, los hombres del grupo Control y las mujeres del grupo Control.

Número de eritrocitos	Cobre en suero		
	Todos (µg/dL)	Hombres (µg/dL)	Mujeres (µg/dL)
Correlación de Pearson	-0,256**	-0,022	-0,269
Significación	0,001	0,826	0,061
Número de casos	152	100	49

** Significativo al 99%

No existe correlación estadísticamente significativa entre el cobre sérico y las variables edad, relación peso y talla, fumador, frecuencia de consumo de pescado y número de empastes de amalgama, ver Tablas IV.2 y IV.3.

Tabla IV.2.- Correlaciones entre las variables del grupo Control: cobre en suero, edad, número de eritrocitos, fumador, sexo y relación peso y talla.

		Cobre en suero	Edad	Eritrocitos	Fumador	Relación peso/talla	Sexo
Correlación de Pearson	Cobre en suero	1	0,130	-0,256**	-0,039	-0,006	0,292**
	Edad	0,130	1	-0,226**	-0,354**	0,090	0,096
	Eritrocitos	-0,256**	-0,226**	1	0,314**	0,265**	-0,609**
	Fumador	-0,039	-0,354**	0,314**	1	-0,019	-0,246**
	Relación peso/talla	-0,006	0,090	0,265**	-0,019	1	-0,375**
	Sexo	0,292**	0,096	-0,609**	-0,246**	-0,375**	1
Significación (bilateral)	Cobre en suero	,	0,091	0,001	0,603	0,935	<0,001
	Edad	0,091	,	0,008	<0,001	0,255	0,212
	Eritrocitos	0,001	0,008	,	<0,001	0,002	<0,001
	Fumador	0,603	<0,001	<0,001	,	0,807	0,001
	Relación peso/talla	0,935	0,255	0,002	0,807	,	<0,001
	Sexo	<0,001	0,212	<0,001	0,001	<0,001	,
Número de casos	Cobre en suero	186	170	152	177	164	182
	Edad	170	170	138	168	163	170
	Eritrocitos	152	138	152	145	133	149
	Fumador	177	168	145	177	162	177
	Relación peso/talla	164	163	133	162	164	164
	Sexo	182	170	149	177	164	182

** La correlación es significativa al 99%.

Puesto que la variable sexo se encuentra relacionada con la relación peso/talla y el hábito de fumar, siendo diferente la concentración de cobre en suero, se deben correlacionar por separado en hombres y mujeres. Se añade a estas dos variables la edad por aparecer en parte de la bibliografía como relacionada al cobre sérico. Así, como se observa en la Tabla IV.3, sigue sin aparecer correlación estadísticamente significativa entre la concentración de cobre en suero y las variables fumador y relación peso/talla, y aparece una correlación estadísticamente significativa entre la concentración de cobre en suero y la edad solamente en los hombres.

Tabla IV.3.- Correlaciones de Pearson entre las variables Fumador y relación peso/talla con la concentración de cobre en suero en hombres y mujeres del grupo Control.

		Cobre en suero		
	Variables	Todos	Hombres	Mujeres
		(µg/dL)	(µg/dL)	(µg/dL)
Correlación de Pearson	Fumador	-0,039	0,043	0,036
	Relación peso/talla	-0,006	0,019	0,136
	Edad	0,130	0,225*	-0,032
Significación	Fumador	0,603	0,656	0,774
	Relación peso/talla	0,935	0,849	0,279
	Edad	0,091	0,024	0,796
Número de casos	Fumador	177	109	68
	Relación peso/talla	164	99	65
	Edad	170	101	69

* Significativo al nivel de 95%

Tabla IV.4.- Correlaciones entre las variables del grupo Control: cobre en suero, cobre en orina corregida con la creatinina, frecuencia en el consumo de pescado y número de empastes de amalgama.

		Cobre en suero	Cobre en orina/CR	Consumo de pescado	Empastes de amalgama
Correlación de Pearson	Cobre en suero	1	0,209**	0,136	-0,134
	Cobre en orina/CR	0,209**	1	0,071	-0,104
	Consumo de pescado	0,136	0,071	1	-0,060
	Empastes de amalgama	-0,134	-0,104	-0,060	1
Significación (bilateral)	Cobre en suero	,	0,005	0,069	0,178
	Cobre en orina/CR	0,005	,	0,413	0,357
	Consumo de pescado	0,069	0,413	,	0,548
	Empastes de amalgama	0,178	0,357	0,548	,
Número de casos	Cobre en suero	186	138	179	102
	Cobre en orina/CR	138	138	135	81
	Consumo de pescado	179	135	179	102
	Empastes de amalgama	102	81	102	102

** La correlación es significativa al 99%.

Puesto que aparece una correlación estadísticamente significativa con el sexo, se realiza una prueba T de comparación de medias de Student-Fisher entre los grupos cobre sérico en hombres y mujeres del grupo Control sin realizar una previa prueba de normalidad entre los grupos dado que por la teoría central del límite se considera que los grupos mayores de 30 pueden ser considerados como tales. Los resultados obtenidos al realizar dicha prueba permiten, con una probabilidad del 99,9%, descartar la hipótesis de igualdad de medias entre los dos grupos, como se puede apreciar en la Tabla IV.5.

Tabla IV.5.- Prueba T de comparación de medias de muestras independientes para los variables de cobre sérico hombres y mujeres del grupo Control.

Prueba de Levene para la igualdad de varianzas			Prueba T para la igualdad de medias					
	F	Sig.	t	gl	Significación (bilateral)	Diferencia de medias	Intervalo de confianza para la media	
Se han asumido varianzas iguales	1,990	0,160	-4,101	180	<0,001**	-15,50	-22,96	-8,04
No se han asumido varianzas iguales			-3,825	113,916	<0,001**	-15,50	-23,53	-7,47

** La correlación es significativa al 99%.

Por consiguiente, la distribución de la variable cobre sérico debe realizarse en dos grupos diferenciados: hombres y mujeres. Para cada uno de estos grupos diferenciados no se observa correlación estadísticamente significativa entre el número de eritrocitos en sangre y la concentración de cobre en el suero. La correlación observada entre las mismas variables, sin tener en cuenta la diferenciación de sexo, se debe al diferente número de eritrocitos entre hombres y mujeres.

De esta manera, la concentración media de cobre sérico en hombres del grupo Control es 105 $\mu\text{g/dL}$ ($N=113$; $SD=21,67$) y el de mujeres 120 $\mu\text{g/dL}$ ($N=69$; $SD=29,10$). El 95% de los casos en los hombres del grupo Control se encuentra entre 76 y 152 $\mu\text{g/dL}$, mientras que el 95% de mujeres del mismo grupo se encuentran entre 77 y 171 $\mu\text{g/dL}$. La distribución de ambas variables se representa por medio de histogramas o diagramas de caja según se puede observar en las figuras IV.2 y IV.3.

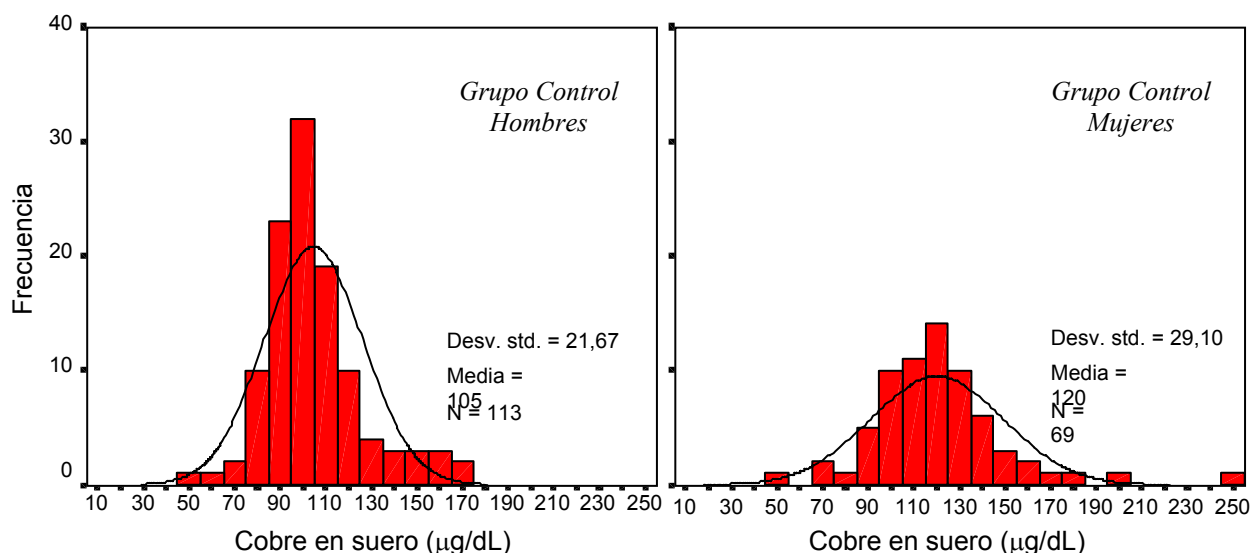


Figura IV.2.- Histogramas que representan la distribución de la variable cobre sérico en hombres y mujeres del grupo Control.

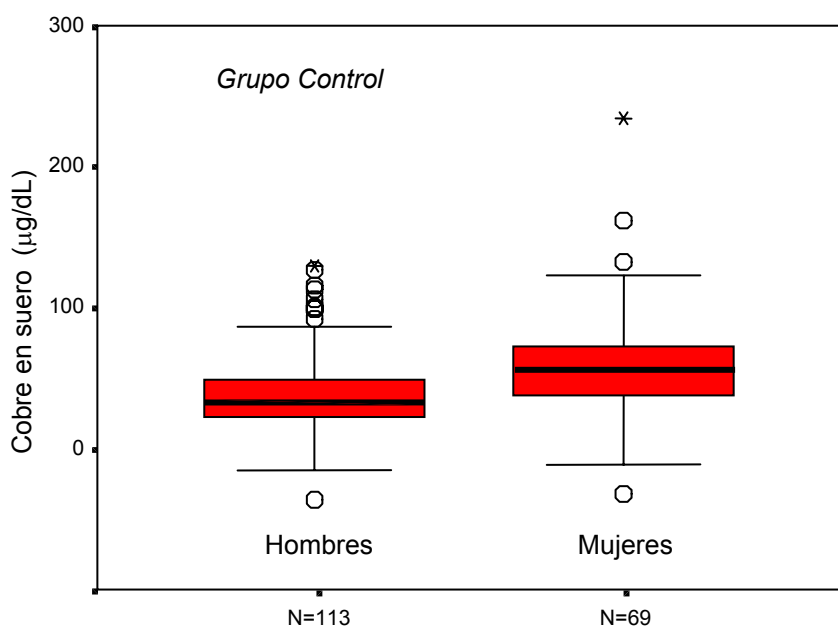


Figura IV.3.- Representación de las distribuciones de cobre en suero para hombres y mujeres del Grupo Control mediante diagramas de caja.

Tanto en hombres como en mujeres, la variable concentración de cobre en suero se distribuye de acuerdo a una ley normal cuando se eliminan los valores extremos o “outliers”, que exceden 1,5 veces la amplitud intercuartil (ver figura IV.4). Así, al aplicar una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov a la concentración de cobre en suero sin valores extremos en hombres ($Z_{\text{hombres}}=0,865$; $p=0,443$) y mujeres ($Z_{\text{mujeres}}=0,395$; $p=0,998$), no se puede descartar que las mismas sigan distribuciones normales.

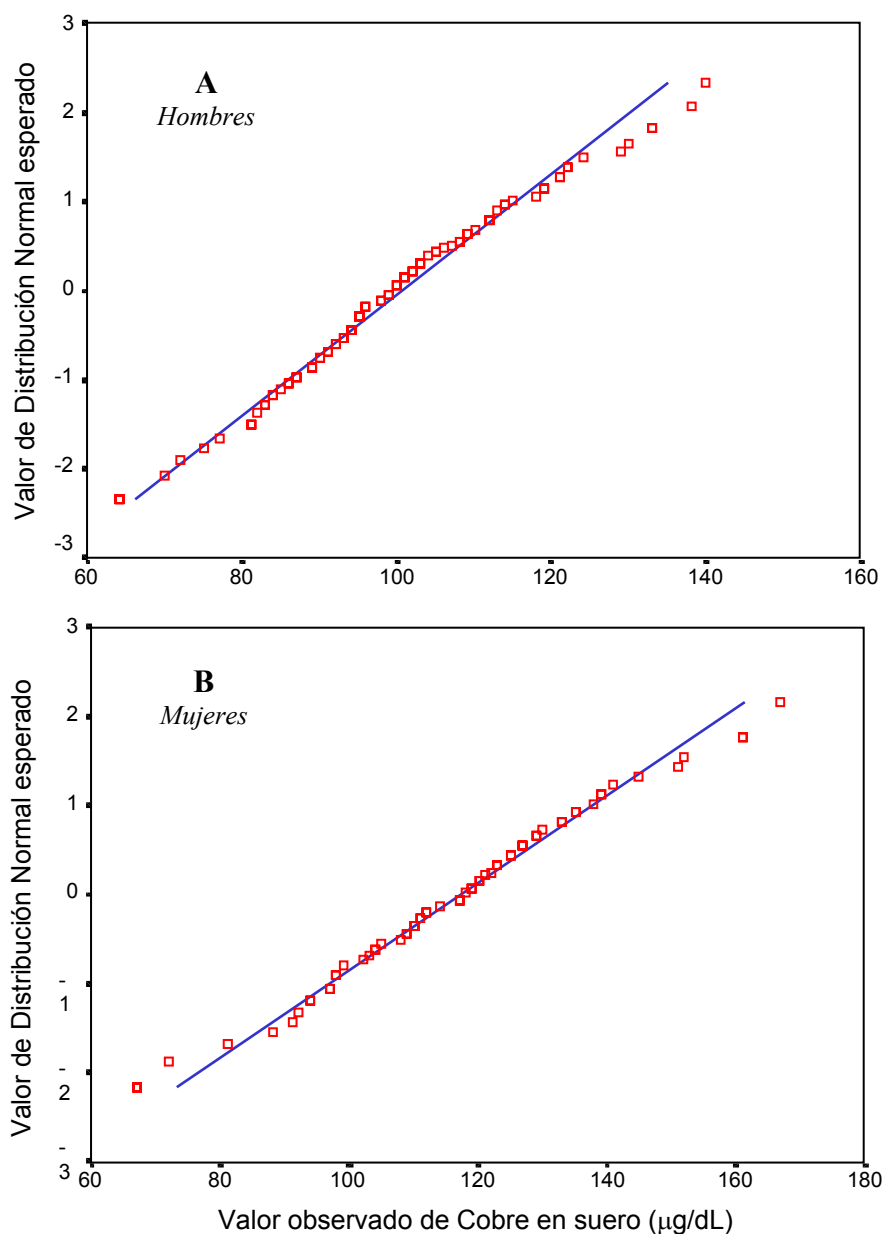


Figura IV.4.- Diagrama de probabilidad normal de la concentración de cobre en suero en (A) hombres y (B) mujeres. La línea azul representa la linealidad perfecta.

2.- URINARIO

Como se observa en la Tabla IV.6, no existe correlación estadísticamente significativa entre el cobre urinario corregido con la creatinina en el grupo Control y las variables fumador, edad, sexo y la relación peso y talla. Por lo tanto, no hace falta distinguir entre hombres y mujeres como en el caso del cobre sérico.

Tabla IV.6- *Correlaciones entre el cobre en orina corregido con la creatinina y la edad, la relación peso y talla, el sexo y el ser fumador o no.*

		Cobre en orina/CR
Correlación de Pearson	Fumador	-0,046
	Relación peso/talla	-0,079
	Edad	0,139
	Sexo	-0,107
Significación (bilateral)	Fumador	0,600
	Relación peso/talla	0,384
	Edad	0,118
	Sexo	0,219
Número de casos	Fumador	133
	Relación peso/talla	123
	Edad	128
	Sexo	135

La media aritmética fue de 8 $\mu\text{g Cu/g CR}$ con una desviación estándar de 5,57 y el número de casos válidos $N=138$. El 95% de los casos del grupo Control se encuentran entre 3 $\mu\text{g Cu/g CR}$ y 19 $\mu\text{g Cu/g CR}$. La distribución se representa mediante un histograma en la figura IV.5 o con un diagrama de cajas en la figura IV.6.

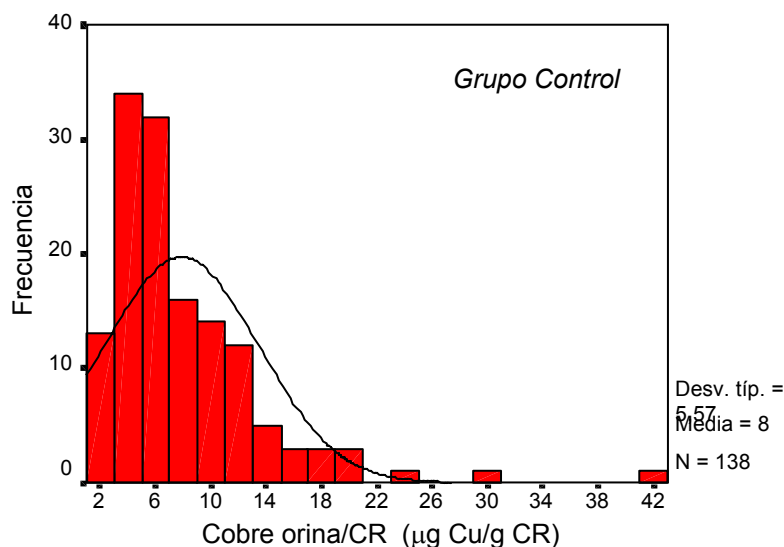


Figura IV.5.- *Histograma que representa la distribución de la concentración de cobre en orina corregida con la creatinina.*

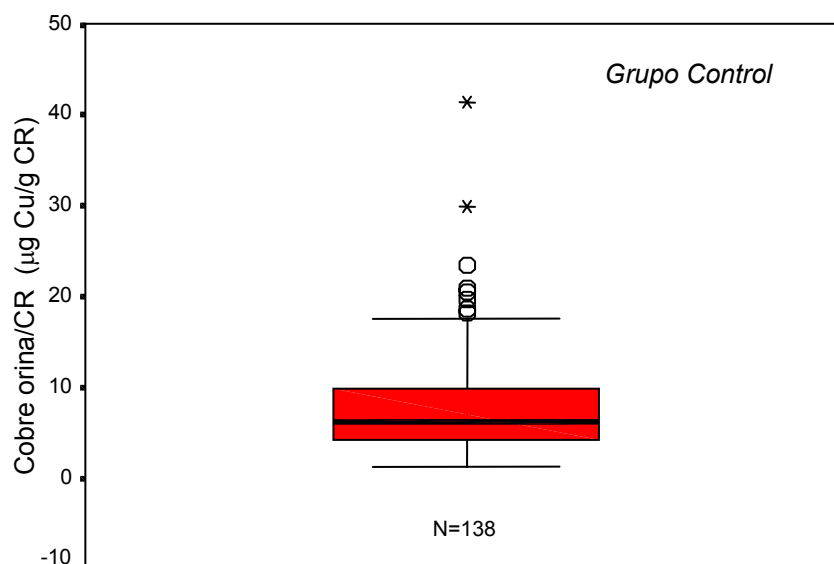


Figura IV.6.- Diagrama de cajas que representa la distribución de la concentración de cobre en orina corregido con la creatinina en el grupo Control.

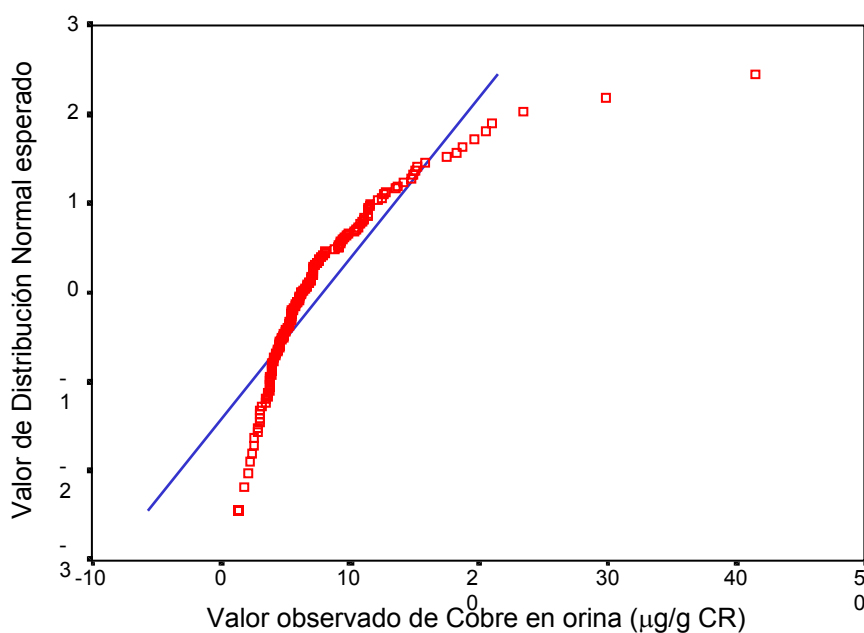


Figura IV.7.- Diagrama de probabilidad normal de la concentración de cobre en orina. La línea azul representa la linealidad perfecta.

Al aplicar una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov se puede descartar con una probabilidad del 99,9% que la concentración de cobre en orina corregida con la creatinina siga una distribución normal (ver figura IV.7), aunque no se puede descartar que la cumpla la variable transformada por el logaritmo decimal ($Z=0,919$; $p=0,788$) (ver figura IV.8).

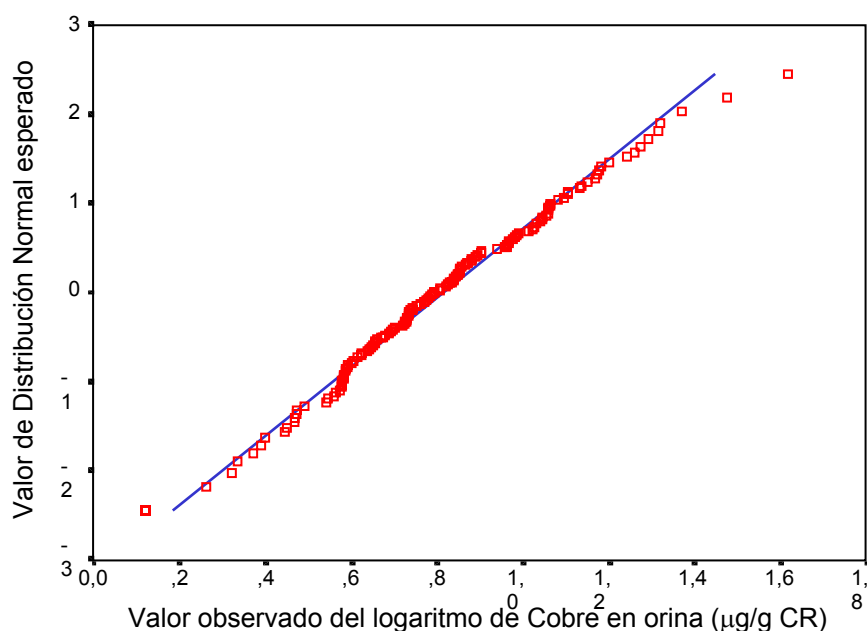


Figura IV.8.- Diagrama de probabilidad normal del logaritmo de la concentración de cobre en orina. La línea azul representa la linealidad perfecta.

Como se observaba en la Tabla IV.7, no existe correlación estadísticamente significativa entre la concentración de cobre en orina corregida con la creatinina y la frecuencia en el consumo de pescado o el número de empastes de amalgama. En la misma tabla se observa una pequeña correlación positiva, estadísticamente significativa, entre la concentración de cobre sérica y la concentración de cobre en orina corregida con la creatinina ($N=138$; $R=0,240$; $p=0,005$). Si se estudian las dos variables mencionadas con un modelo de regresión lineal se observa un coeficiente de determinación bajo de 0,061 (ver figura IV.8).

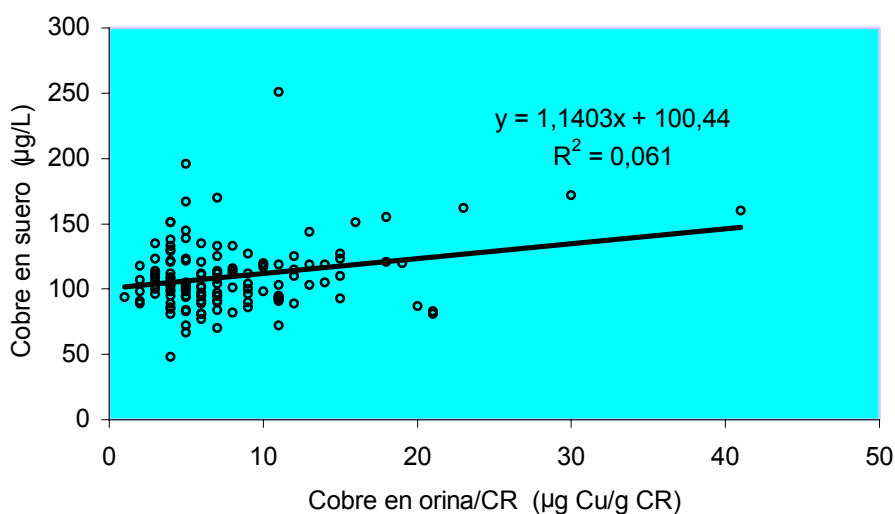


Figura IV.8.- Representación del cobre sérico frente al cobre en orina corregido con creatinina y la recta de regresión obtenida.

V.- PLOMO

1.- SANGUÍNEO

La media aritmética fue de 4,7 $\mu\text{g/dL}$ con una desviación estándar de 3,155 y el número de casos válidos $N=186$. El 95% de los casos del grupo Control se encuentran entre 1,3 $\mu\text{g/dL}$ y 12,4 $\mu\text{g/dL}$. Sin embargo, dado que la concentración de plomo en sangre correlaciona significativamente con el sexo ($N=182$; $R=0,238$; $p=0,001$), se realiza una prueba T de comparación de medias entre los grupos plomo sanguíneo en hombres y mujeres del grupo Control y una prueba no paramétrica de comparación de medianas de U de Mann-Whitman. Los resultados obtenidos al realizar dichas prueba permiten, con una probabilidad del 99,9%, descartar la hipótesis de igualdad de medias y medianas entre los dos grupos, como se puede apreciar en las Tablas V.1 y V.2.

Tabla V.1.- Prueba T de comparación de medias de muestras independientes para la variable plomo sanguíneo en hombres y mujeres del grupo Control.

Prueba de Levene para la igualdad de varianzas			Prueba T para la igualdad de medias					
	F	Sig.	t	gl	Significación (bilateral)	Diferencia de medias	Intervalo de confianza para la media	
							Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	0,922	0,338	3,294	180	0,001**	1,553	0,623	2,484
No se han asumido varianzas iguales			3,410	159,53	0,001**	1,553	0,654	2,453

** Diferencia estadísticamente significativa al 99%

Tabla V.2.- Prueba no paramétrica de U de Mann-Whitman de comparación de medianas para la variable plomo sanguíneo en hombres y mujeres del grupo Control.

U de Mann-Whitman	Z	Significación
2493	-4,077	Menor de 0,001**

** Diferencia estadísticamente significativa al 99%

Para comprobar si al referir la concentración de plomo en sangre al número de eritrocitos, como recomienda Lauwerys (271), desaparece la diferencia estadísticamente significativa entre hombres y mujeres, se divide la variable concentración de plomo en sangre por la variable número de eritrocitos y se comparan las medias de ambos grupos con una prueba T de Student y una prueba de U de Mann-Whitman permaneciendo la citada diferencia por razón de género, como así se puede observar en las Tablas V.3 y V.4.

Tabla V.3.- Prueba T de comparación de medias de muestras independientes para la variable concentración de plomo en sangre dividida por el número de eritrocitos entre los hombres y mujeres del grupo Control.

Prueba de Levene para la igualdad de varianzas	Prueba T para la igualdad de medias							
	F	Sig.	t	gl	Significación (bilateral)	Diferencia de medias	Intervalo de confianza para la media	
							Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	2,301	0,131	3,072	147	0,003**	0,312	0,111	0,513
No se han asumido varianzas iguales			3,486	131,588	0,001**	0,312	0,135	0,490

** Diferencia estadísticamente significativa al 99%

Tabla V.4.- Prueba no paramétrica de U de Mann-Whitman de comparación de medianas para la variable concentración de plomo en sangre dividida por el número de eritrocitos entre los hombres y mujeres del grupo Control.

U de Mann-Whitman	Z	Significación
1559,5	-3,598	Menor de 0,001**

** Diferencia estadísticamente significativa al 99%

Por consiguiente, la distribución de la concentración de plomo en sangre debe realizarse en dos grupos diferenciados: hombres y mujeres. La concentración media de plomo en sangre en hombres del grupo Control es 5,3 $\mu\text{g/dL}$ ($N=113$; $SD=3,243$) y el de mujeres 3,7 $\mu\text{g/dL}$ ($N=69$; $SD=2,810$). El 95% de los casos en los hombres del grupo Control se encuentra entre 1,7 y 13,6 $\mu\text{g/dL}$, mientras que el 95% de mujeres del mismo grupo se encuentran entre 0,8 y 9,5 $\mu\text{g/dL}$. La distribución de ambas variables se representa por medio de histogramas o diagramas de caja según se puede observar en las figuras V.1 y V.2.

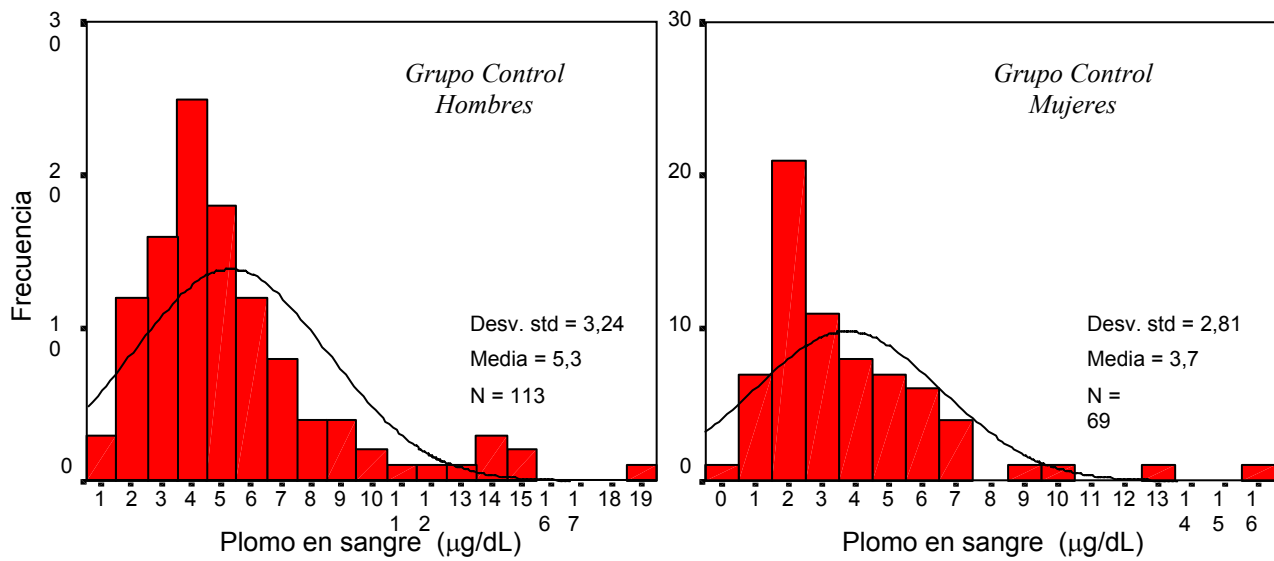


Figura V.1.- Histogramas que representan la distribución de la variable plomo sanguíneo en hombres y mujeres del grupo Control.

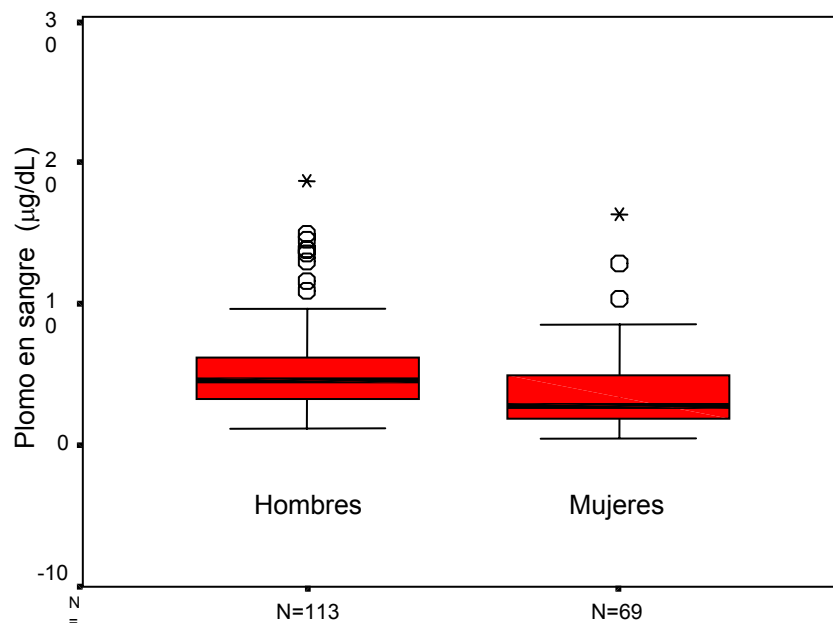


Figura V.2.- Representación de las distribuciones de plomo en sangre para hombres y mujeres del Grupo Control mediante diagramas de caja.

Tanto para el plomo sanguíneo en hombres como en mujeres, la distribución que siguen sus valores se rigen por una ley normal cuando se transforma la variable en el logaritmo decimal de la misma ($Z_{\text{hombres}}=0,566$; $p=0,906$) ($Z_{\text{mujeres}}=0,578$; $p=0,892$) de la que se alejaban más anteriormente ($Z_{\text{hombres}}=1,690$; $p=0,007$) o ($Z_{\text{mujeres}}=1,309$; $p=0,065$) como se puede observar en las figuras V.3 y V.4.

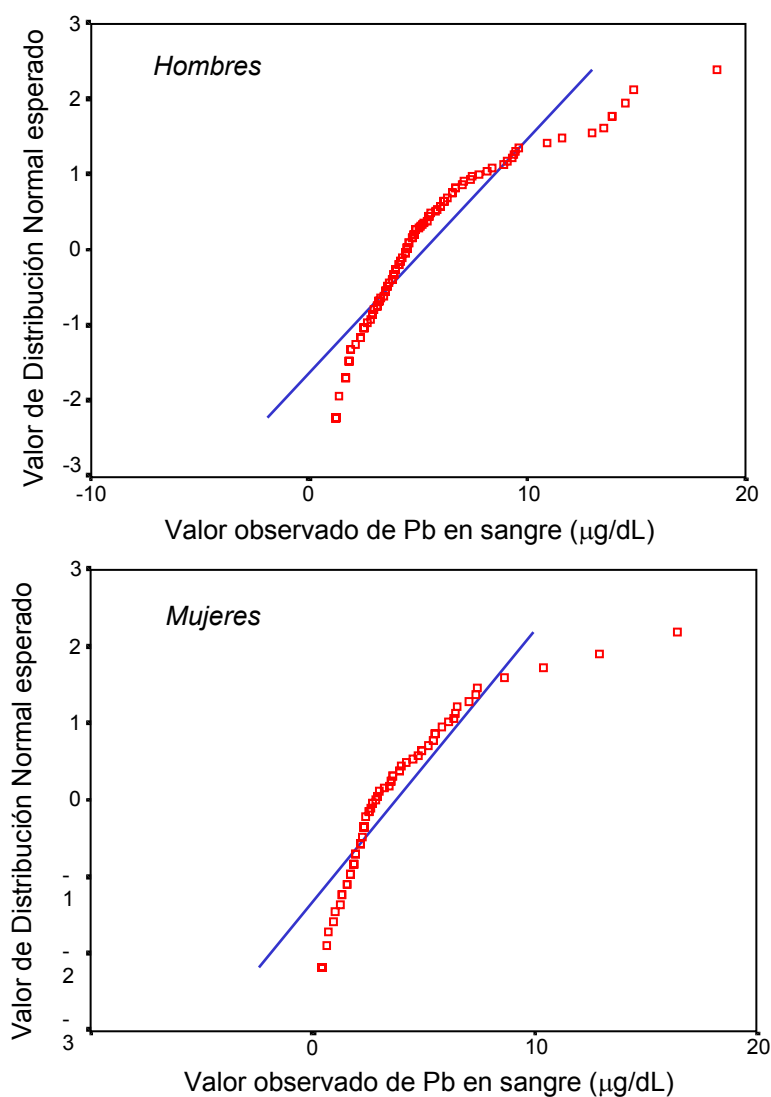


Figura V.3.- Diagrama de probabilidad normal de la concentración de plomo en sangre en hombres y mujeres. La línea azul representa la linealidad perfecta.

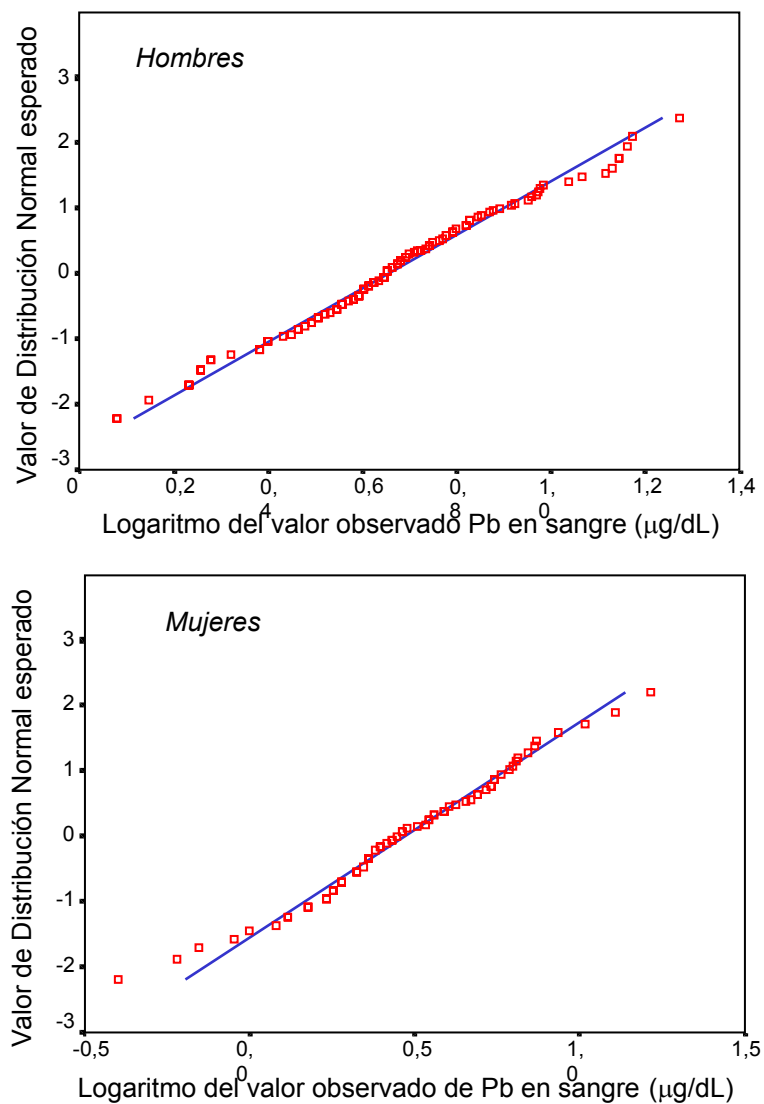


Figura V.4.- Diagrama de probabilidad normal del logaritmo de la concentración de plomo en sangre en hombres y mujeres. La línea azul representa la linealidad perfecta.

No existe correlación estadísticamente significativa entre el plomo sanguíneo y las variables edad, relación peso y talla, fumador, frecuencia de consumo de pescado, número de eritrocitos y número de empastes de amalgama (ver Tabla V.5).

Tabla V.5.- Correlaciones entre la concentración de plomo en sangre y orina corregida con la creatinina del grupo Control y las variables: edad, número de eritrocitos, fumador, relación peso y talla, número de empastes de amalgama, la frecuencia en el consumo de pescado y el sexo.

		Plomo en sangre	Plomo en orina/CR
Correlación de Pearson	Plomo en sangre	1	0,461**
	Plomo en orina/CR	0,461**	1
	Edad	0,090	0,366**
	Eritrocitos	0,081	-0,143
	Fumador	-0,036	-0,032
	Relación peso/talla	0,066	0,102
	Número de empastes de amalgama	0,026	0,072
	Frecuencia consumo de pescado	-0,014	0,072
	Sexo	-0,238**	-0,112
Significación (bilateral)	Plomo en sangre	,	<0,001
	Plomo en orina/CR	<0,001	,
	Edad	0,244	<0,001
	Eritrocitos	0,322	0,126
	Fumador	0,636	0,714
	Relación peso/talla	0,401	0,257
	Número de empastes de amalgama	0,798	0,523
	Frecuencia consumo de pescado	0,852	0,402
	Sexo	0,001	0,191
Número de casos	Plomo en sangre	186	140
	Plomo en orina/CR	140	140
	Edad	170	130
	Eritrocitos	152	116
	Fumador	177	135
	Relación peso/talla	164	125
	Número de empastes de amalgama	102	82
	Frecuencia consumo de pescado	179	137
	Sexo	182	137

** La correlación es significativa al 99%.

2.- URINARIO

Como se observa en la Tabla V.6, no existe correlación estadísticamente significativa entre el plomo urinario corregido con la creatinina en el grupo Control y las variables fumador, relación peso y talla y el sexo. Por lo tanto, no hace falta distinguir entre hombres y mujeres como en el caso del plomo en sangre. Sí que existe una correlación positiva estadísticamente significativa entre el plomo urinario y la edad (N=130; R=0,366; p<0,001).

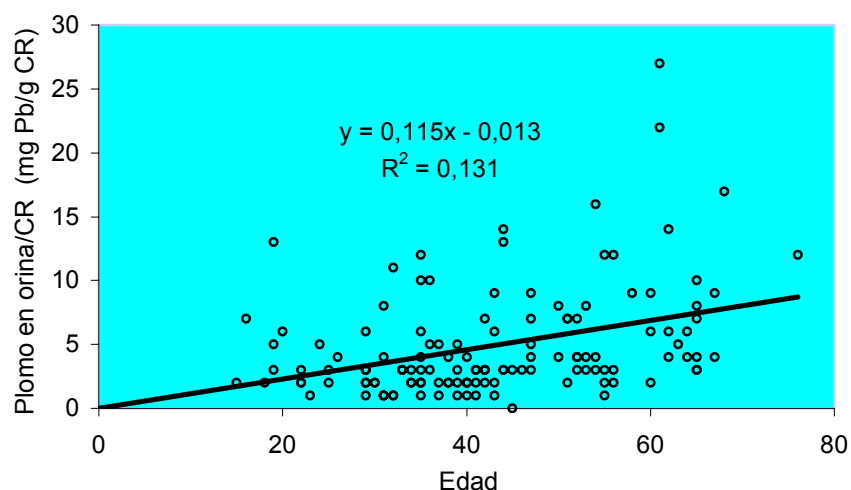


Figura V.5.- Recta de regresión lineal entre las variables concentración de plomo en orina corregida con la creatinina y la edad.

Para comprobar la relación existente entre la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina y la edad, se divide la edad en cinco grupos de un número de casos similares:

- Menor de 32 años, con 33 casos
- Mayor o igual a 32 años y menor de 40 años, con 33 casos
- Mayor o igual a 40 años y menor de 51 años, con 35 casos
- Mayor o igual a 51 años y menor de 60 años, 34 casos
- Mayor o igual a 60 años, 35 casos

Los distintos grupos obtenidos se pueden observar en la Tabla V.6.

Tabla V.6.- Distintos descriptivos estadísticos para la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina de los distintos grupos de edad del grupo Control.

Grupo	Media	Mediana	Número de casos	Desviación Estándar	Intervalo de confianza 95%	
					inferior	superior
1	3,5	2,8	27	2,61	0,9	10,8
2	3,8	2,7	30	3,08	0,7	11,3
3	4,3	3,0	31	3,39	0,5	13,4
4	5,5	3,9	21	3,99	1,3	15,4
5	8,7	6,4	21	6,52	2,0	26,6
Total	4,8	3,3	130	4,18	1,1	12,8

Debido a que los cinco grupos no se distribuyen de acuerdo a una distribución normal, puesto que la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks permite descartar la hipótesis de que cada uno de los cinco grupos de edad tienen una distribución normal con una probabilidad mayor del 99%, se procede a realizar el cambio de la variable, concentración de plomo en orina corregida con la creatinina, por su logaritmo decimal. De esta manera, y de acuerdo con la prueba de Shapiro-Wilks sobre los cinco nuevos grupos, no se puede descartar con una probabilidad estadísticamente significativa, que los grupos obtenidos al tomar logaritmos sigan una distribución normal (ver Tabla V.7).

Tabla I.7.- Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks para los cinco grupos de edad del grupo Control y las variables concentración de plomo en orina corregida con la creatinina y logaritmo de la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina.

Variable	Grupos de edad	Estadístico de Shapiro-Wilks	Grados de libertad	Significación
Plomo en orina/CR	1	0,200	27	< 0,010 (**)
	2	0,790	30	< 0,010 (**)
	3	0,836	31	< 0,010 (**)
	4	0,860	21	< 0,010 (**)
	5	0,826	21	< 0,010 (**)
Logaritmo del Plomo en orina/CR	1	0,985	27	0,954
	2	0,972	30	0,634
	3	0,973	30	0,655
	4	0,966	21	0,610
	5	0,980	21	0,906

(**) Hipótesis nula significativa al 99%

Comparando la media del logaritmo de la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina en los cinco grupos de edad con un análisis de varianzas (ANOVA) (Tabla V.8) y la prueba “post hoc” de Bonferroni (Tabla V.9), se observa que se puede descartar la hipótesis de igualdad de medias entre los cinco grupos ($F=6,618$; $p<0,001$) pero que tan sólo el grupo 5, de más edad, tiene una media estadísticamente diferente de los demás grupos.

Tabla V.8.- Análisis de Varianzas (ANOVA) entre los distintos grupos de edad del grupo Control para la variable logaritmo de la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina.

ANOVA	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Significación
Intergrupos	2,477	4	0,619	6,618	Menor de 0,001 (**)
Intragrupos	11,602	124	0,09356		
Total	14,079	128			

(**) Hipótesis nula significativa al 99%

Tabla V.9.- Prueba Bonferroni de comparaciones múltiples entre los distintos grupos de edad del grupo Control para la variable logaritmo de la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina.

(I) Grupos de edad	(J) Grupos de edad	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Significación.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1 (menor de 32 años)	2	-0,014	0,081	1,000	-0,246	0,218
	3	-0,106	0,081	1,000	-0,338	0,126
	4	-0,192	0,089	0,326	-0,447	0,062
	5	-0,399(*)	0,089	<0,001	-0,653	-0,145
2 (32 a 39 años)	1	0,014	0,081	1,000	-0,218	0,246
	3	-0,092	0,079	1,000	-0,318	0,134
	4	-0,179	0,087	0,420	-0,428	0,070
	5	-0,385(*)	0,087	<0,001	-0,634	-0,137
3 (40 a 50 años)	1	0,106	0,081	1,000	-0,126	0,338
	2	0,092	0,079	1,000	-0,134	0,318
	4	-0,087	0,087	1,000	-0,336	0,162
	5	-0,293(*)	0,087	0,010	-0,542	-0,045
4 (51 a 59 años)	1	0,192	0,089	0,326	-0,062	0,447
	2	0,179	0,087	0,420	-0,070	0,428
	3	0,087	0,087	1,000	-0,162	0,336
	5	-0,207	0,094	0,305	-0,476	0,063
5 (mayor de 59 años)	1	0,399(*)	0,089	<0,001	0,145	0,653
	2	0,385(*)	0,087	<0,001	0,137	0,634
	3	0,293(*)	0,087	0,010	0,045	0,542
	4	0,207	0,094	0,305	-0,063	0,476

* La diferencia entre las medias es significativa al 99%

Otra forma de afrontar el problema de no seguir una distribución normal, sería comparar la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina de los cinco grupos de edad mediante una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Dicha prueba proporciona el mismo resultado que el análisis de varianzas (ANOVA), es decir, refleja una diferencia estadísticamente significativa entre los distintos grupos (Chi-cuadrado=21,251; gl=4; $p<0,001$). Si la prueba de Kruskal-Wallis se realiza sobre los primeros cuatro grupos, el resultado obtenido no permite descartar la hipótesis de igualdad de medias entre los grupos (Chi-cuadrado=5,048; gl=3; $p=0,168$).

De hecho, la correlación estadísticamente significativa, entre la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina y la edad, desaparece cuando se restringe la primera variable a un subgrupo del grupo Control de edad inferior a 50 años ($N=79$; $R=0,198$; $p=0,81$).

La media aritmética de la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina en el grupo Control fue de 4,8 $\mu\text{g Pb/g CR}$, con una desviación estándar de 4,18 y el

número de casos válidos, N, igual a 140. El 95% de los casos del grupo Control se encuentran entre 1,1 $\mu\text{g Cu/g CR}$ y 12,8 $\mu\text{g Cu/g CR}$. La distribución se representa mediante un histograma en la figura V.6 o con un diagrama de cajas en la figura V.7.

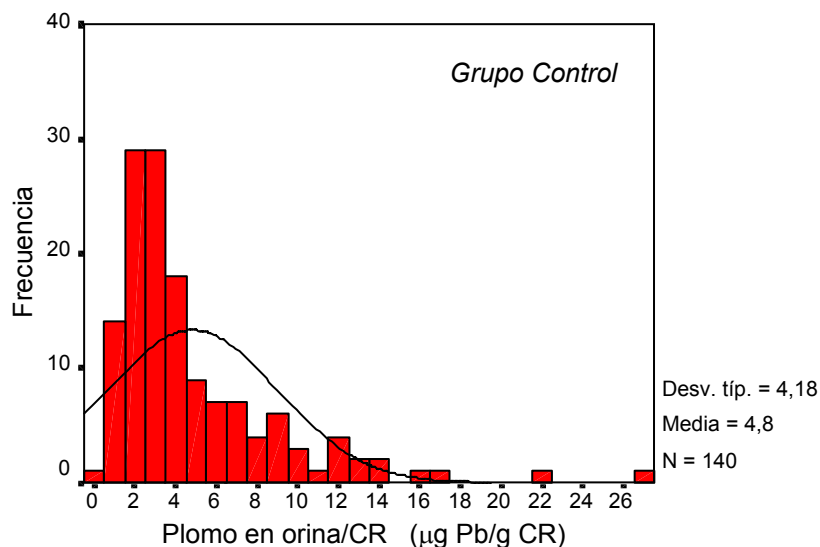


Figura V.6.- Histograma que representa la distribución de la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina en el grupo Control.

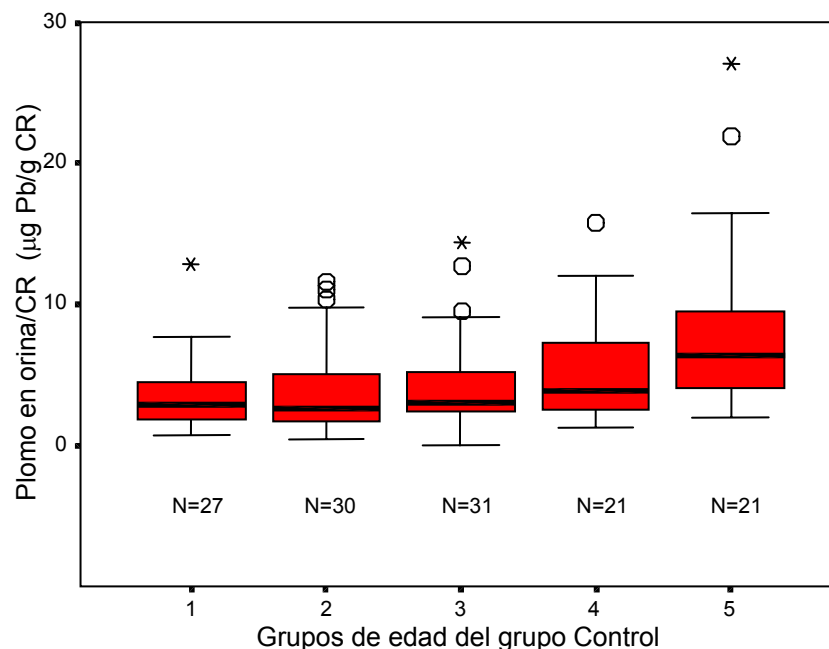


Figura V.7.- Diagramas de caja que representan la distribución de los cinco grupos de edad para la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina en el grupo Control

Como se ha comentado anteriormente para los distintos grupos de edad, la variable concentración de plomo en orina corregida con la creatinina sigue una distribución normal cuando se transforma tomando logaritmos decimales ($Z=0,621$; $p=0,835$), como se puede observar en la figuras V.8 y V.9.

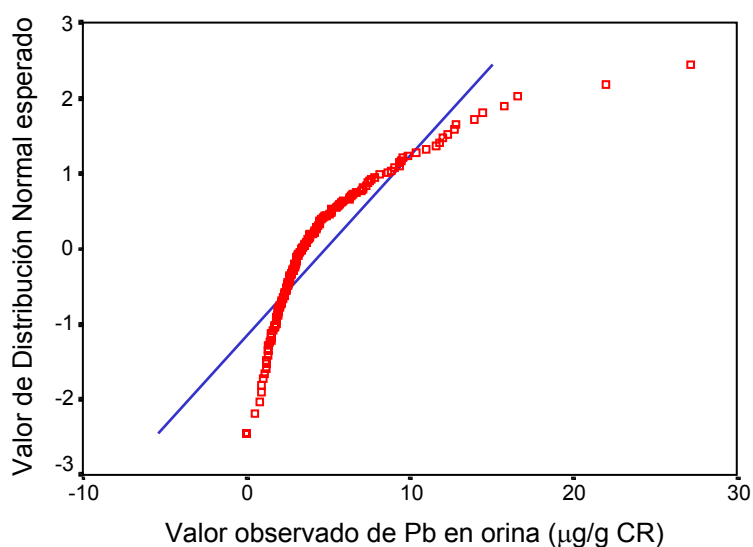


Figura V.8.- Diagrama de probabilidad normal de la concentración de plomo en orina. La línea azul representa la linealidad perfecta.

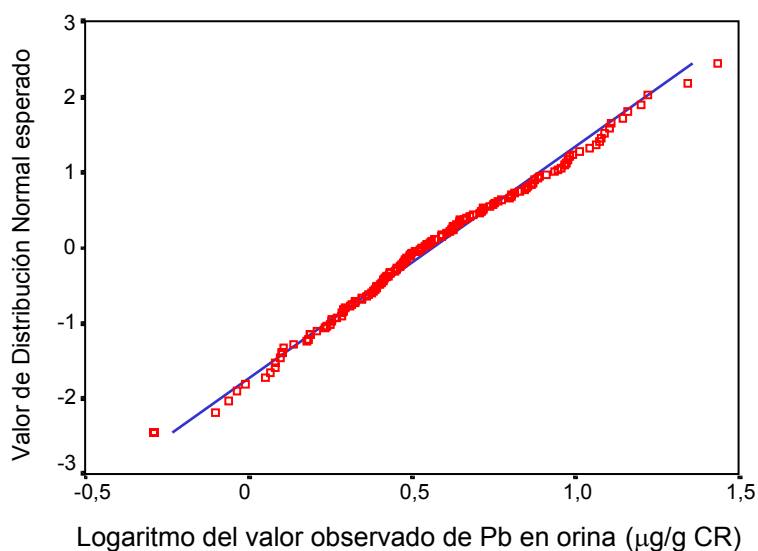


Figura V.9.- Diagrama de probabilidad normal del logaritmo de la concentración de plomo en orina. La línea azul representa la linealidad perfecta.

En la Tabla V.5 se observa una correlación positiva, estadísticamente significativa, entre la concentración de plomo en sangre y la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina ($N=140$; $r=0,461$; $p<0,001$). Si se estudian las dos variables mencionadas con un modelo de regresión lineal se observa un coeficiente de determinación de 0,21 (ver figura V.10).

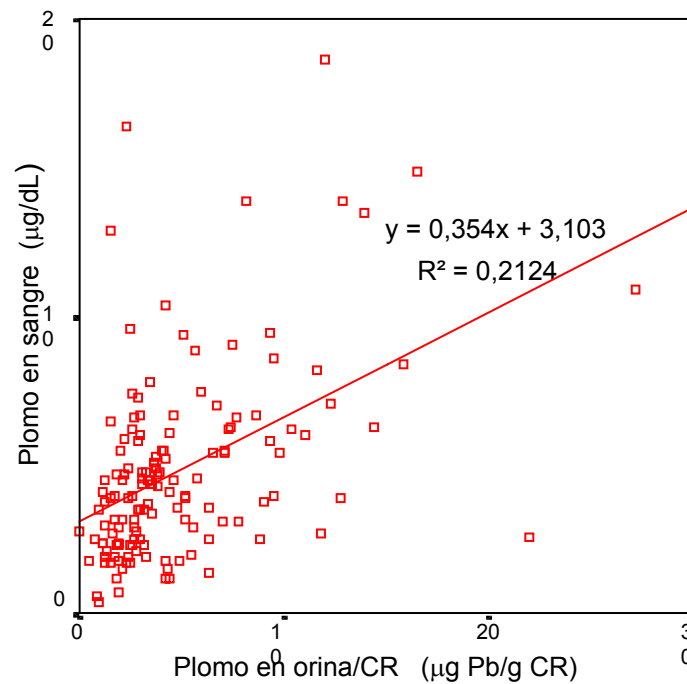


Figura V.10.- Recta de regresión entre la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina y la concentración

VI.- SELENIO

1.- SANGUÍNEO

La media aritmética fue de 118 $\mu\text{g/L}$ con una desviación estándar de 26,43 y el número de casos válidos $N=186$. El 95% de los casos del grupo Control se encuentran entre 80 $\mu\text{g/L}$ y 164 $\mu\text{g/L}$. La distribución se representa mediante un histograma en la figura VI.1 y con un diagrama de cajas en la figura VI.2.

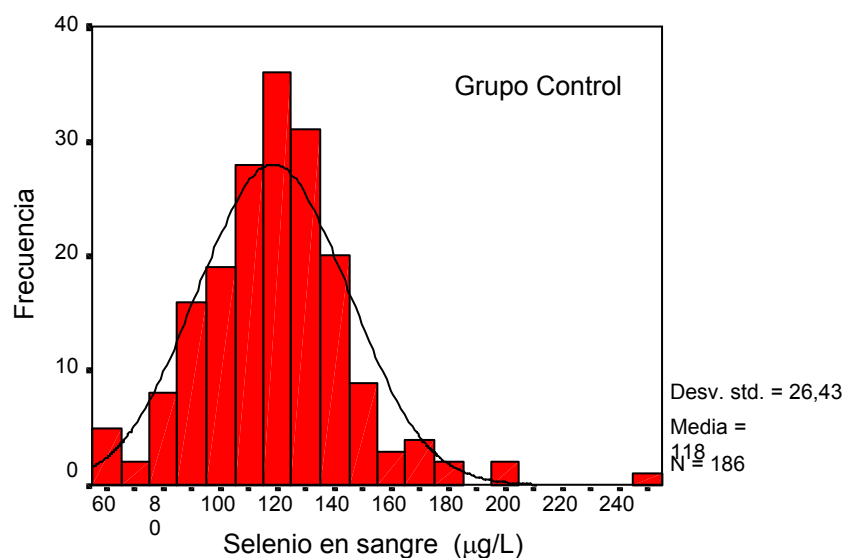


Figura VI.1.- Histograma que representa la distribución de selenio en sangre en el grupo Control.

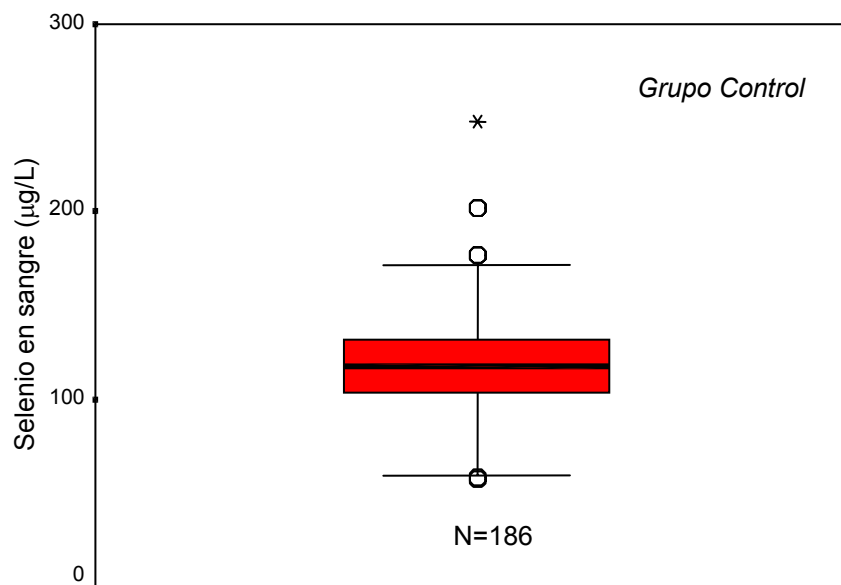


Figura VI.2.- Diagrama de cajas que representa la distribución de la concentración de selenio en sangre en el grupo Control

La variable concentración de selenio en sangre se distribuye de acuerdo a una ley normal cuando se eliminan los valores extremos o “outliers”, que exceden 1,5 veces la amplitud intercuartil (ver figura VI.3). Así, al aplicar una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov a la concentración de cobre en suero sin valores extremos ($Z=0,745$; $p=0,636$) no se puede descartar que la misma siga una distribución normal.

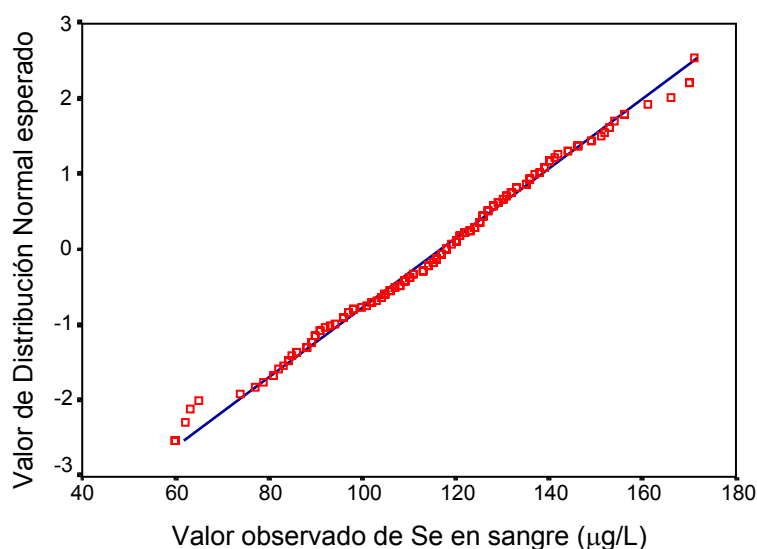


Figura VI.3.- Diagrama de probabilidad normal de la concentración de selenio en sangre, sin valores extremos. La línea azul representa la linealidad perfecta.

Como se observa en la Tabla VI.1, no existe correlación estadísticamente significativa entre la concentración de selenio en sangre en el grupo control y las variables sexo, edad, número de eritrocitos y la relación entre el peso y la talla. Sí que aparece una correlación estadísticamente significativa con la variable fumador ($N=177$; $R=-0,212$; $p=0,005$) y con la concentración de selenio en orina corregida con la creatinina ($N=186$; $R=0,238$; $p=0,006$).

Tabla VI.1.- Correlaciones de Pearson entre las variables concentración de selenio en sangre y concentración de selenio en orina corregida con la creatinina con las variables edad, número de eritrocitos, fumador, relación peso/talla, número de empastes de amalgama, la frecuencia en el consumo de pescado y el sexo del grupo Control.

Variable		Selenio en sangre	Selenio en orina/CR
Correlación de Pearson	Selenio en sangre	1	0,244**
	Selenio en orina/CR	0,244**	1
	Edad	0,038	0,137
	Nº Eritrocitos	0,001	-0,027
	Fumador	-0,212**	-0,040
	Relación peso/talla	0,073	-0,019
	Número de empastes de amalgama	-0,098	0,067
	Frecuencia en el consumo de pescado	0,191*	0,170
	Sexo	0,001	0,031
Significación (bilateral)	Selenio en sangre	,	0,005
	Selenio en orina/CR	0,006	,
	Edad	0,626	0,129
	Nº Eritrocitos	0,988	0,784
	Fumador	0,005	0,656
	Relación peso/talla	0,350	0,839
	Número de empastes de amalgama	0,327	0,564
	Frecuencia en el consumo de pescado	0,011	0,053
	Sexo	0,990	0,723
Número de casos	Selenio en sangre	186	133
	Selenio en orina/CR	133	133
	Edad	170	123
	Eritrocitos	152	109
	Fumador	177	128
	Relación peso/talla	164	118
	Número de empastes de amalgama	102	76
	Frecuencia en el consumo de pescado	179	130
	Sexo	182	130

** La correlación es estadísticamente significativa 99%.

* La correlación es estadísticamente significativa al 95%.

Se observa una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de selenio en sangre de los no fumadores y los fumadores del grupo Control al realizar una prueba T, de comparación de medias de Student-Fisher (ver Tabla VI.2).

Tabla VI.2.- Prueba T de comparación de medias de Student-Fisher para los grupos fumador y no fumador de la variable concentración de selenio en sangre del grupo Control.

Prueba de Levene para la igualdad de varianzas	Prueba T para la igualdad de medias							
	F	Sig.	t	gl	Sig.	Diferencia de medias	Intervalo de confianza para la media	
Se han asumido varianzas iguales	0,664	0,416	2,865	175	0,005**	11,99	3,73	20,26
No se han asumido varianzas iguales			3,153	140,943	0,002**	11,99	4,47	19,52

** Diferencia estadísticamente significativa al 99%.

La concentración media de selenio en sangre en los no fumadores es superior, 122 $\mu\text{g/L}$, a la de los fumadores, 110 $\mu\text{g/L}$. La distribución de ambos grupos se puede observar en la figura VI.4.

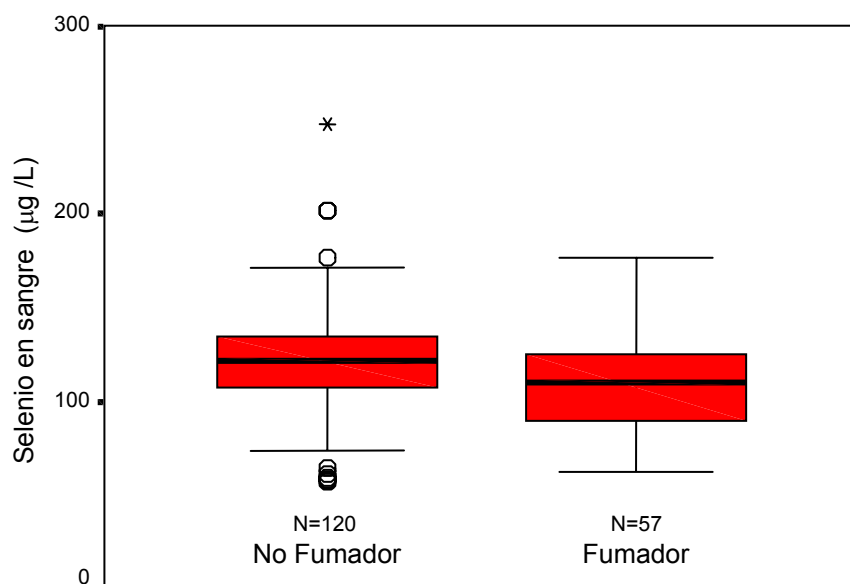


Figura VI.4.- Diagramas de cajas que representan la distribución de la concentración de selenio en sangre en los fumadores y no fumadores del grupo Control

En la Tabla VI.3, también se aprecia una correlación estadísticamente significativa entre el consumo de pescado y la concentración de selenio en sangre ($N=179$; $r=0,191$; $p=0,011$), cuya diferencia de medias se observa mejor en la figura VI.5.

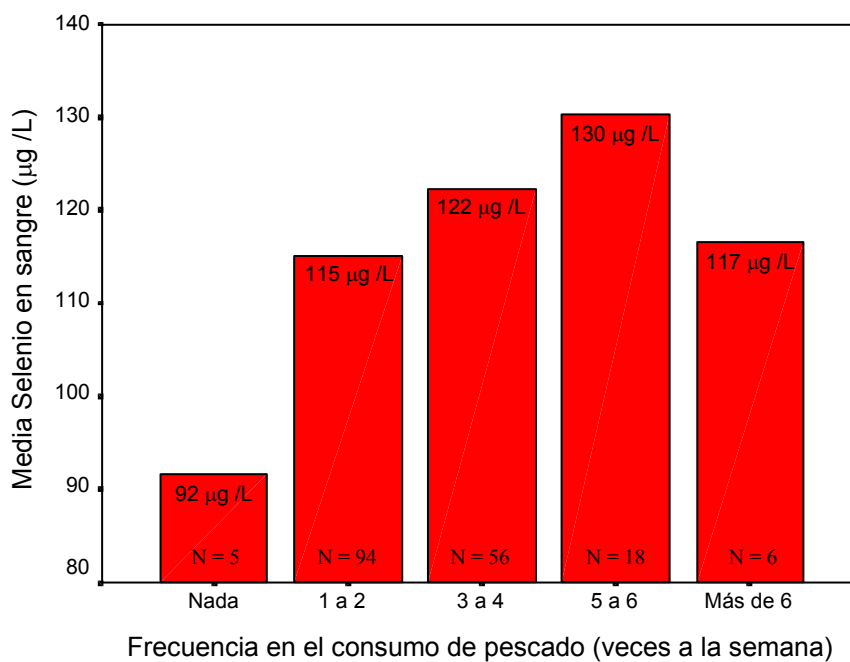


Figura VI.5.- Concentración media de selenio en sangre en los diferentes grupos de frecuencia en el consumo de pescado del grupo control

2.- ORINA

La concentración media de selenio en orina corregida con la creatinina en el grupo Control es 14 µg Se/g CR, con un 95% del grupo Control entre 0 y 36 µg Se/g CR. La distribución de la variable se representa en las figuras VI.6 y VI.7.

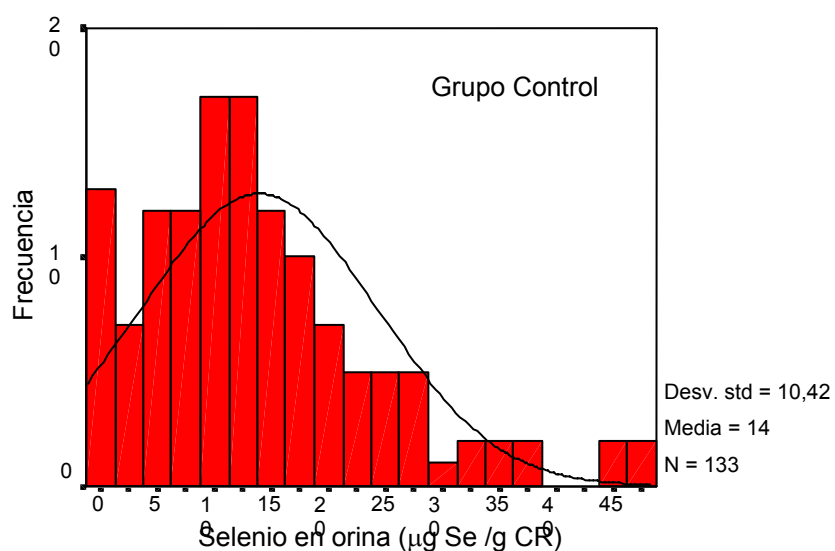


Figura VI.6.- Histograma que representa la distribución de la concentración de selenio en orina corregida con la creatinina en el grupo Control.

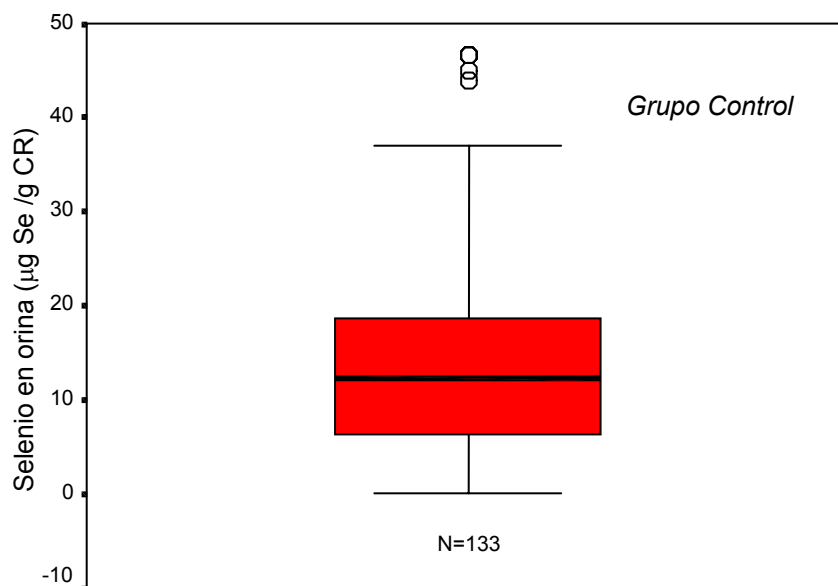


Figura VI.7.- Diagrama de cajas que representa la distribución de la concentración de selenio en orina corregida con la creatinina en el grupo Control.

La variable concentración de selenio en orina corregida con la creatinina sigue una distribución normal cuando se transforma tomando logaritmos decimales y se excluyen los valores extremos o “outliers”, que exceden 1,5 veces la amplitud intercuartil ($Z=0,682$; $p=0,741$), como se puede observar en la figuras VI.8 y VI.9.

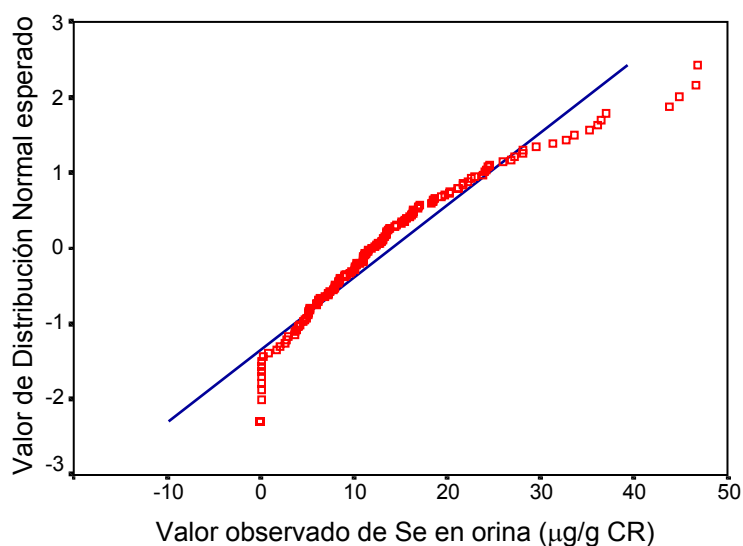


Figura VI.9.- Diagrama de probabilidad normal de la concentración de selenio en orina. La línea azul representa la linealidad perfecta.

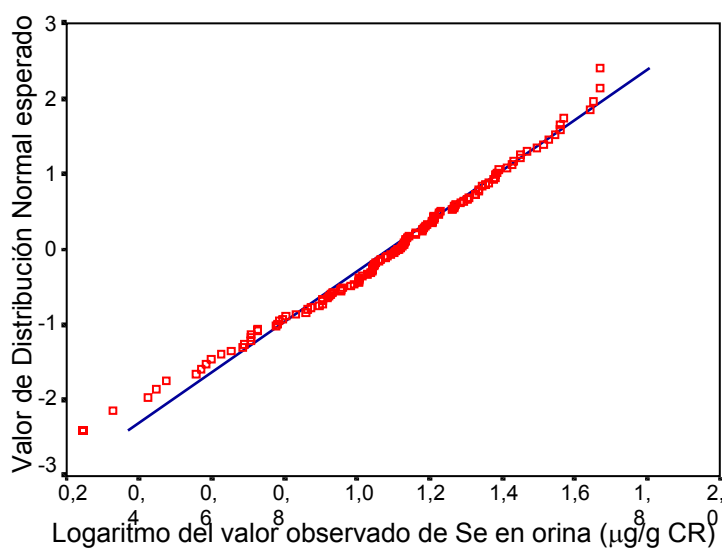


Figura VI.10.- Diagrama de probabilidad normal del logaritmo de la concentración de selenio en orina. La línea azul representa la linealidad perfecta.

Como se refleja en la Tabla VI.1, la variable del grupo Control, concentración de selenio en orina corregida con la creatinina, no se encuentra correlacionada estadísticamente, al contrario que la concentración de selenio en sangre, con la frecuencia en el consumo de pescado ($N=133$; $R=0,170$; $p=0,053$). No existe correlación estadísticamente significativa entre la concentración de selenio en orina corregida con la creatinina, en el grupo Control, y las variables sexo, edad, fumador y la relación entre el peso y la talla.

Como se indicó anteriormente, existe una correlación estadísticamente significativa, aunque débil, entre la concentración de selenio en sangre y la concentración de selenio en orina corregida con la creatinina ($N=186$; $R=0,244$; $p=0,005$). Si se estudian las dos variables mencionadas con un modelo de regresión lineal se observa un bajo coeficiente de determinación de 0,06 (ver figura VI.11).

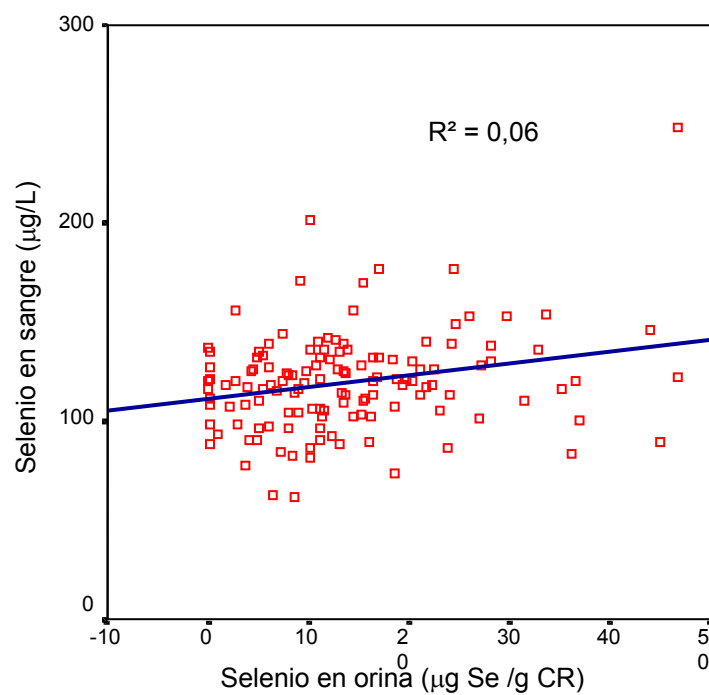


Figura VI.11.- Representación del selenio en sangre frente al selenio en orina corregido con creatinina y la recta de regresión obtenida.

VII.- ZINC

1.- SÉRICO

La concentración media de zinc en suero es 117 $\mu\text{g/dL}$ con una desviación estándar de 19,94 y el número de casos válidos $N=186$. El 95% de los casos del grupo Control se encuentran entre 89 $\mu\text{g/dL}$ y 155 $\mu\text{g/dL}$. La distribución se representa mediante un histograma en la figura VII.1.

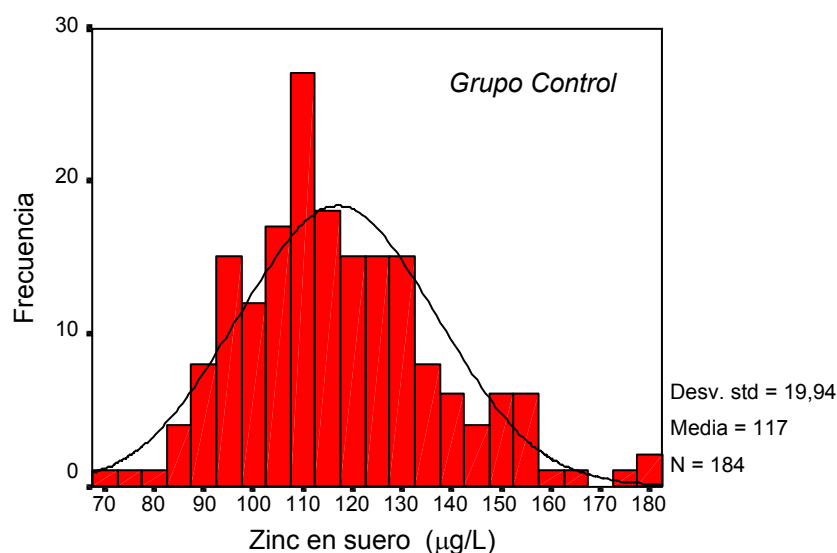


Figura VII.1.- Histograma que representa la distribución de la concentración de zinc en suero en el grupo Control.

Como se observa en la Tabla VII.1, el zinc sérico del grupo Control tiene una correlación positiva estadísticamente significativa con el sexo ($N=180$; $R=-0,243$; $p=0,001$) y una correlación negativa estadísticamente significativa con el número de eritrocitos en la sangre ($N=151$; $R=0,362$; $p<0,001$). No existe correlación estadísticamente significativa entre el zinc sérico y las variables edad, relación peso y talla, fumador, frecuencia de consumo de pescado y número de empastes de amalgama.

Tabla VII.1.- Correlaciones entre las variables del grupo Control: concentración de zinc en suero, concentración de zinc en orina corregida con la creatinina, edad, número de eritrocitos, fumador, sexo, relación peso y talla, frecuencia en el consumo de pescado y número de empastes de amalgama.

Variables		Zinc en suero	Zinc en orina/CR
Correlación de Pearson	Zinc en suero	1	0,404**
	Zinc en orina/CR	0,404**	1
	Edad	-0,032	-0,050
	Número de eritrocitos	0,362**	0,145
	Fumador	0,122	0,114
	Relación peso/talla	-0,007	-0,009
	Número de empastes de amalgama	-0,084	-0,037
	Frecuencia consumo de pescado	0,074	0,033
	Sexo	-0,243**	-0,210*
Significación (bilateral)	Zinc en suero	-----	Menor de 0,001
	Zinc en orina/CR	Menor de 0,001	-----
	Edad	0,683	0,569
	Número de eritrocitos	0,000	0,120
	Fumador	0,106	0,189
	Relación peso/talla	0,930	0,921
	Número de empastes de amalgama	0,401	0,739
	Frecuencia consumo de pescado	0,326	0,699
	Sexo	0,001	0,014
Número de casos	Zinc en suero	184	140
	Zinc en orina/CR	140	140
	Edad	170	130
	Número de eritrocitos	151	116
	Fumador	177	135
	Relación peso/talla	164	125
	Número de empastes de amalgama	102	82
	Frecuencia consumo de pescado	179	137
	Sexo	180	137

** La correlación es significativa al 99%

* La correlación es significativa al 95%

Puesto que aparece una correlación estadísticamente significativa con el sexo, se realiza una prueba T de comparación de medias de Student-Fisher de la concentración de zinc sérico en hombres y mujeres del grupo Control. Los resultados obtenidos al realizar dicha prueba permiten, con una probabilidad del 99,9%, descartar la hipótesis de igualdad de medias entre los dos grupos, como se puede apreciar en la Tabla VII.2.

Tabla VII.2.- Prueba T de comparación de medias de Student-Fisher de muestras independientes para los variables de concentración de zinc sérico en hombres y mujeres del grupo Control.

Prueba de Levene para la igualdad de varianzas			Prueba T para la igualdad de medias					
	F	Sig.	t	gl	Significación (bilateral)	Diferencia de medias	Intervalo de confianza para la media	
							Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	1,696	0,195	3,336	178	0,001**	10,01	4,09	15,94
No se han asumido varianzas iguales			3,411	154,600	0,002**	10,01	4,21	15,81

** La correlación es significativa al 99%.

De esta manera, se comprueba la correlación existente entre el número de eritrocitos y el zinc sérico en los dos grupos diferenciados de hombres y mujeres, siguiéndose observando, al contrario que en el caso del cobre sérico, correlación estadísticamente significativa entre ambos grupos y el número de eritrocitos (ver Tabla VII.3)

Tabla VII.3.- Correlaciones entre la concentración de zinc sérico en hombres y mujeres del grupo Control con la variable número de eritrocitos.

	Variable	Eritrocitos
Correlación de Pearson	Zinc en suero	0,362**
	Zinc sérico (hombres)	0,199*
	Zinc sérico (mujeres)	0,501**
Significación	Zinc en suero	<0,001
	Zinc sérico (hombres)	0,048
	Zinc sérico (mujeres)	<0,001
Número de casos	Zinc en suero	151
	Zinc sérico (hombres)	99
	Zinc sérico (mujeres)	49

** La correlación es estadísticamente significativa al 99%.

* La correlación es estadísticamente significativa al 95%.

Si se refiere la variable zinc sérico con el número de eritrocitos, dividiendo la primera por la segunda, desaparece la correlación estadísticamente significativa con el sexo (N=148; R=0,123; p=0,135), no pudiéndose descartar la hipótesis de igualdad de medias al aplicar una prueba T de comparación de medias de Student-Fisher a la nueva variable, relación cobre sérico y número de eritrocitos, en los grupos mujeres y hombres, tal y como se puede observar en la Tabla VII.4.

Tabla VII.4.- Prueba T de comparación de medias de Student-Fisher entre la concentración sérica de zinc dividida con el número de eritrocitos en los hombres y mujeres del grupo Control.

Prueba de Levene para la igualdad de varianzas			Prueba T para la igualdad de medias					
	F	Sig.	t	gl	Sig.	Diferencia de medias	Intervalo de confianza para la media	
							Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	3,933	0,049*	-1,502	146	0,135	-1,0031	-2,3233	0,317
No se han asumido varianzas iguales			-1,618	116,61	0,108	-1,0031	-2,2313	0,225

* La correlación es estadísticamente significativa al 95%.

De hecho, la diferencia de medias de zinc sérico entre los hombres y mujeres es pequeña, sobre todo si se comparan los intervalos de concentraciones incluidos entre los percentiles 5 y 95 de ambos sexos. Así, la concentración media de zinc sérico en

hombres del grupo Control es 121 $\mu\text{g/dL}$ ($N=111$; $SD=20,26$) y el de mujeres 111 $\mu\text{g/dL}$ ($N=69$; $SD=18,43$). El 95% de los casos en los hombres del grupo Control se encuentra entre 90 y 156 $\mu\text{g/dL}$, mientras que el 95% de mujeres del mismo grupo se encuentran entre 85 y 151 $\mu\text{g/dL}$. La distribución de ambas variables se representa por medio de diagramas de caja según se puede observar en las figura VII.2.

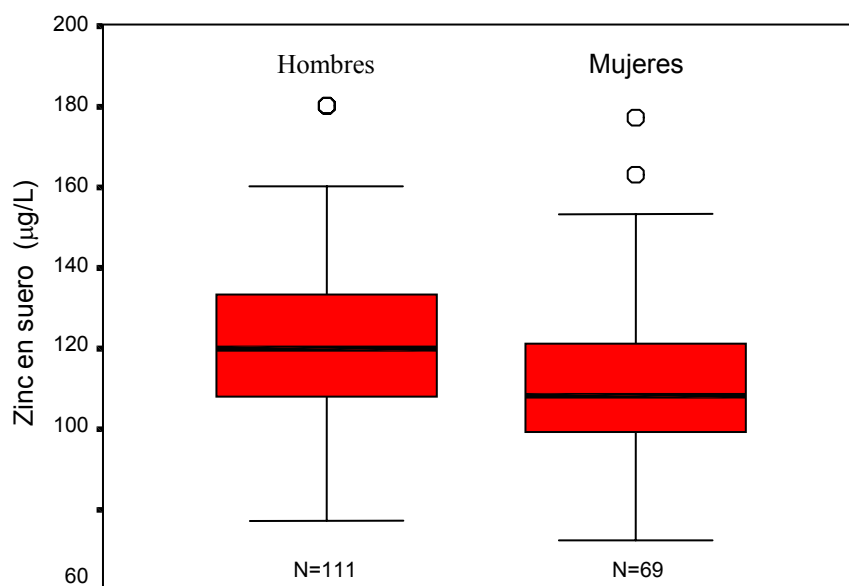


Figura VII.2.- Diagramas de caja que representan las distribuciones de la concentración de zinc sérico en hombres y mujeres del grupo Control.

Tanto al observar la distribución de la variable concentración de zinc sérico por medio de un histograma de frecuencias (figura VII.1) o por medio de diagramas de caja (VII.2) no se aprecia una gran asimetría. De hecho los coeficientes de asimetría 0,636 (error típico 0,179) y de curtosis 0,502 (error típico 0,356) no indican una desviación grande. Sin embargo, la variable no sigue una distribución normal en el caso de las mujeres ($Z=0,126$; $p=0,022$) aunque sí en el caso de los hombres ($Z=0,076$; $p=0,145$). Dicha desviación se produce en los valores altos de zinc sérico en mujeres (ver figura VII.3), que se anula al relacionar los resultados al número de eritrocitos, tanto en mujeres ($Z=0,660$; $p=0,776$) como en hombres ($Z=0,712$; $p=0,690$) (ver figura VII.4).

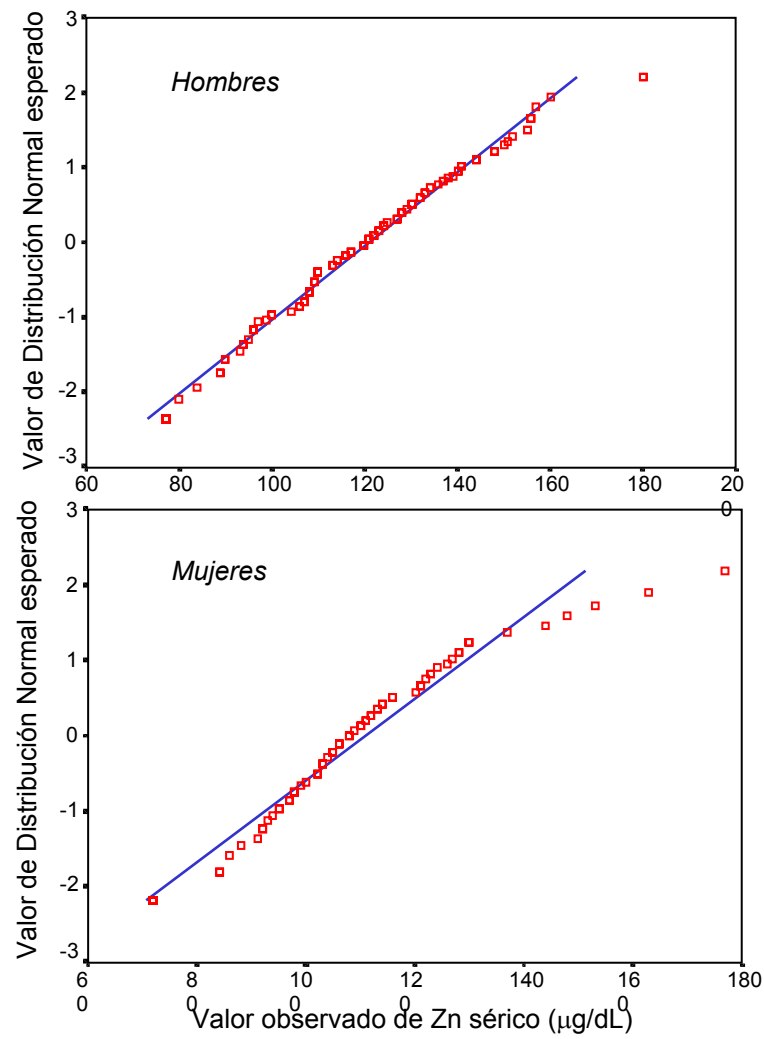


Figura VII.3.- Diagrama de probabilidad normal de la concentración de zinc en suero en hombres y mujeres. La línea azul representa la linealidad perfecta

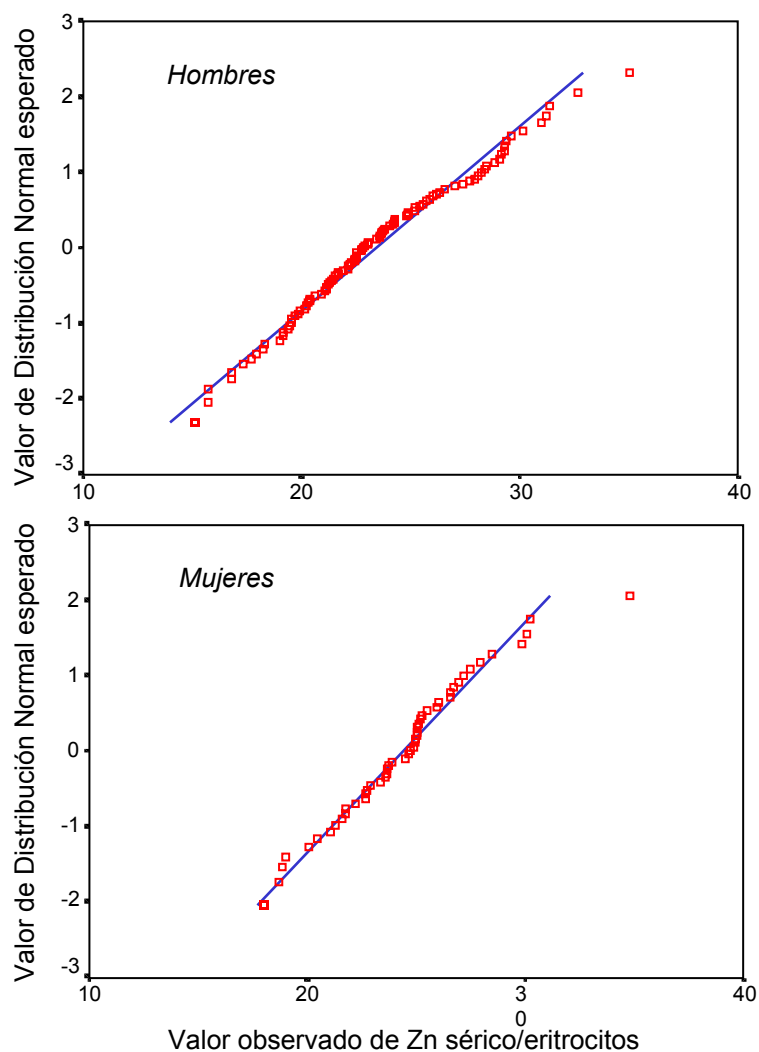


Figura VII.4.- Diagrama de probabilidad normal de la relación zinc sérico y eritrocitos en hombres y mujeres. La línea azul representa la linealidad perfecta.

2.- URINARIO

La concentración media de zinc en orina corregida con la creatinina en el grupo Control es 679 $\mu\text{g Zn/g CR}$, encontrándose el 95% de los resultados entre 203 y 2098 $\mu\text{g Zn/g CR}$, con un número de casos de 140 y una desviación estándar de 450,82, como se puede observar en la Tabla VII.5.

Tabla VII.5.- Estadísticos descriptivos de la concentración de zinc en orina corregida con la creatinina del grupo Control.

N	Media	Mediana	Desv. estándar	Mínimo	Máximo	Percentiles	
						2,75	97,5
140	679	542	450,82	165	2426	203	2098

Como se observa en la Tabla VII.1, no existe correlación estadísticamente significativa entre el zinc urinario corregido con la creatinina en el grupo Control y las variables fumador, edad, la relación peso y talla, la frecuencia en el consumo de pescado y el número de empastes de amalgama. Las dos únicas correlaciones estadísticamente significativas que aparecen son con las variables sexo (N=137; R=-0,210; p=0,014) y con la concentración de zinc sérico (N=140; R=0,404; p<0,001).

Tanto en el grupo hombres como en el mujeres, el zinc urinario no se distribuye de acuerdo a una ley normal. Al aplicar una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov aparece una diferencia estadísticamente significativa en ambos, como se observa en la Tabla VII.6.

Tabla VII.6.- Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov para la variable concentración de zinc en orina corregida con la creatinina.

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Significación	Estadístico	gl	Significación
Hombres	0,228	93	<0,001 **			
Mujeres	0,152	44	0,012 *	0,842	44	<0,010**

* Diferente de una distribución normal con una significación mayor del 95%

** Diferente de una distribución normal con una significación mayor del 99%

Se observa una diferencia estadísticamente significativa entre la mediana de la concentración de zinc urinario corregido con la creatinina de los hombres y mujeres al aplicar una prueba U no paramétrica de comparación de medianas de Mann-Whitney a los citados grupos (ver Tabla VII.7), por lo que debemos hablar de dos grupos diferenciados.

Tabla VII.7.- Prueba U no paramétrica de comparación de medianas de Mann-Whitney a los grupos hombres y mujeres de la variable concentración de zinc en orina corregida con la creatinina.

U de Mann-Whitney	1592,5
W de Wilcoxon	2582,5
Z	-2,091
Significación	0,037*

* Diferencia estadísticamente significativa al 95%

La concentración media de zinc en orina corregida con la creatinina de la concentración de zinc urinario corregida con la creatinina en los hombres del grupo Control es 746 $\mu\text{g Zn/g CR}$ con una desviación estándar de 502,866 y el número de casos válidos $N=93$. El 95% de los casos de los hombres del grupo Control se encuentran entre 276 $\mu\text{g Zn/g CR}$ y 1974 $\mu\text{g Zn/g CR}$. En el caso de las mujeres, la media es 542 $\mu\text{g Zn/g CR}$ con una desviación estándar de 288,362 estando el 95% de los casos entre los valores 193 $\mu\text{g Zn/g CR}$ y 1018 $\mu\text{g Zn/g CR}$. La distribución de ambos grupos se representa mediante un histograma en la figura VII.5 o con un diagrama de cajas en la figura VII.6.

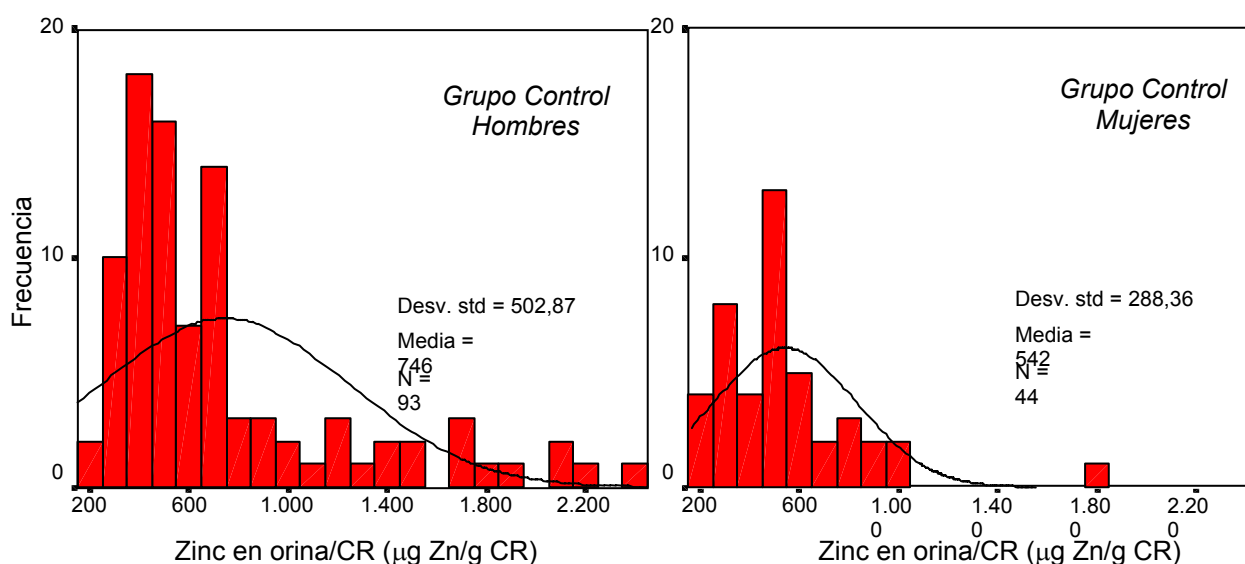


Figura VII.5.- Histogramas que representan las distribuciones de las concentraciones de zinc en orina, corregida con la creatinina, en hombres y mujeres del grupo Control.

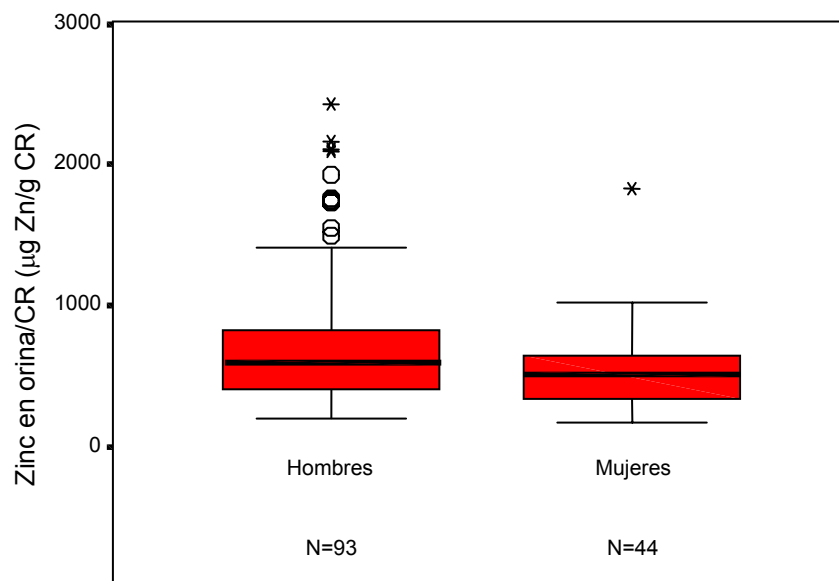


Figura VII.6.- Diagramas de caja que representan las distribuciones de las concentraciones de zinc en orina, corregida con la creatinina, en hombres y mujeres del grupo Control.

Sin embargo, al estudiar la distribución de cajas que representa los grupos zinc urinario en hombres y mujeres se observa que la diferencia entre los dos grupos se encuentra, principalmente, en los valores extremos o “outliers”, por lo que se repite la prueba U no paramétrica de comparación de medianas de Mann-Whitney excluyendo los valores extremos, no apareciendo así una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas de ambos grupos como puede observarse en la Tabla VII.8. Por lo tanto, la diferencia estadísticamente significativa entre los hombres y mujeres no se mantiene en toda la distribución de la variable.

Tabla VII.8.- Prueba U no paramétrica de comparación de medianas de Mann-Whitney a los grupos hombres y mujeres de la variable concentración de zinc en orina corregida con la creatinina excluyendo los valores extremos o “outliers”.

U de Mann-Whitney	1504,5
W de Wilcoxon	2450,5
Z	-1,143
Significación	0,253

Sin tener en cuenta los valores extremos o “outliers” las concentraciones medias de zinc en orina corregida con la creatinina para los hombres y mujeres del grupo Control son 573 $\mu\text{g Zn/g CR}$ y 512 $\mu\text{g Zn/g CR}$, respectivamente. El 95% de los hombres tienen concentraciones entre 208 y 1223 $\mu\text{g Zn/g CR}$ y el 95% de las mujeres entre 166 y 1021 $\mu\text{g Zn/g CR}$. En conjunto, con un número de casos de 126 y una desviación estándar de 238,29, la concentración media de zinc en orina corregida con la creatinina en el grupo Control es 553 $\mu\text{g Zn/g CR}$, la mediana es 519 $\mu\text{g Zn/CR}$, encontrándose el 95% de los casos entre 201 y 1207 $\mu\text{g Zn/g CR}$ como puede observarse en la Tabla VII.9.

Tabla VII.9.- Estadísticos descriptivos de la concentración de zinc en orina corregida con la creatinina excluyendo los valores extremos o “outliers” del grupo Control.

N	Media	Mediana	Desviación estándar	Percentiles	
				2,5	97,5%
126	553	519	238,2913	201	1207

La variable concentración de cobre en suero no sigue una distribución normal, tal y como se puede observar en la figura VII.7.

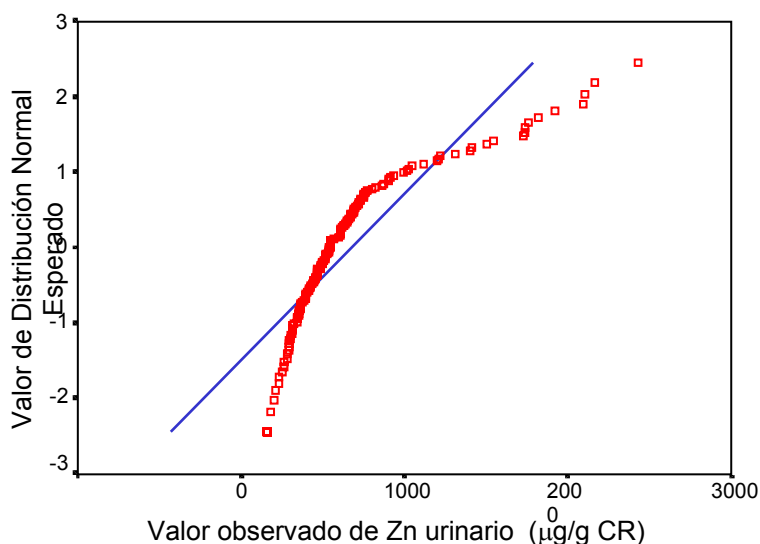


Figura VII.7.- Diagrama de probabilidad normal de la concentración de zinc en orina. La línea azul representa la linealidad perfecta

No obstante, al aplicar una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, no se puede descartar que la misma variable transformada por su logaritmo decimal no siga una distribución normal ($Z=0,966$; $p=0,308$).

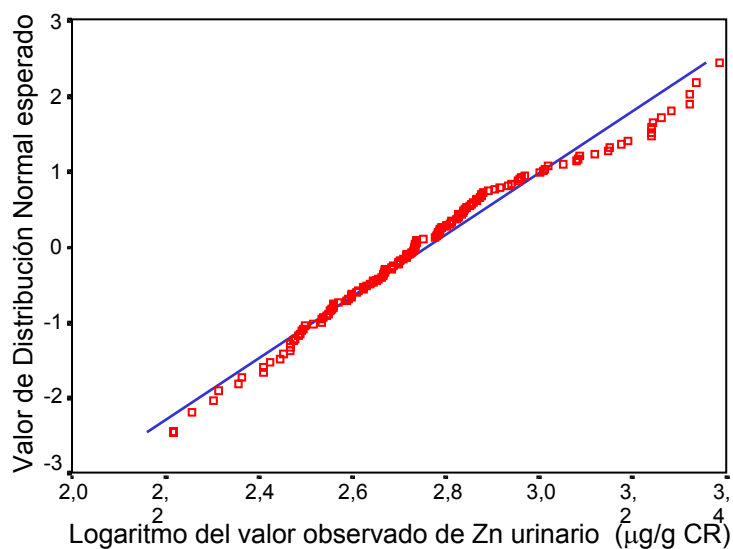


Figura VII.7.- Diagrama de probabilidad normal del logaritmo de la concentración de zinc en orina. La línea azul representa la linealidad perfecta

Como se ha mencionado anteriormente, se observa una correlación positiva, estadísticamente significativa, entre la concentración de zinc en suero y la concentración de zinc en orina corregida con la creatinina ($N=140$; $R=0,404$; $p<0,001$). Si se estudian las dos variables mencionadas con un modelo de regresión lineal se observa un coeficiente de determinación de 0,163 (ver figura VII.8).

Si aplicamos un modelo de regresión lineal en pasos sucesivos con las variables sexo, edad, número de eritrocitos, fumador y zinc urinario para observar cómo varía el zinc sérico observamos que sólo el número de eritrocitos y el zinc urinario no son excluidos por no constituir modelos estadísticamente significativos en una prueba AVOVA (ver Tabla VII.10).

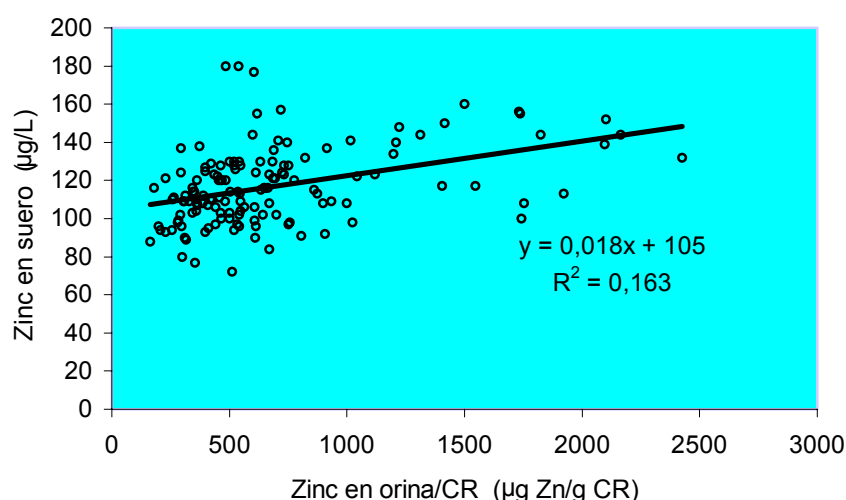


Figura VII.8.- Representación del zinc sérico frente al zinc en orina corregido con creatinina y la recta de regresión obtenida.

Tabla VII.10.- Modelos sucesivos de regresión lineal para la variable dependiente concentración de zinc en suero con las variables predictoras: Sexo, edad, frecuencia fumador, y número de eritrocitos y zinc urinario.

ANOVA: Variable dependiente = Zinc en suero (ZnS)						
Modelo		Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Significación
1	Regresión	6410,943	1	6410,943	16,903	Menor de 0,001**
	Residual	38686,817	102	379,283		
	Total	45097,760	103			
	Variables excluidas: Sexo, edad, frecuencia fumador y nº eritrocitos					
	Ecuación	$ZnS = 0,017 \cdot (ZnO) + 105,529$				
2	Regresión	11441,900	2	5720,950	17,168	Menor de 0,001**
	Residual	33655,860	101	333,226		
	Total	45097,760	103			
	Variables excluidas: Sexo, edad y frecuencia fumador					
	Ecuación	$ZnS = 0,016 \cdot (ZnO) + 15,275 \cdot 10^{-6} (Eritr) + 29,158$				

1 Variables predictoras: (Constante), Zinc en orina/CR

2 Variables predictoras: (Constante), Zinc en orina/CR, número Eritrocitos

** Significativa al 99,9%

Si se aplica un modelo de regresión lineal de pasos sucesivos teniendo, esta vez como variable dependiente la concentración de zinc en orina corregida con la creatinina, y como variables predictoras: el sexo, la edad, la frecuencia de fumador y la concentración de zinc en suero, se observa en la Tabla VII.11 que la única variable predictora que no se elimina es la concentración de zinc en suero.

Tabla VII.11.- Modelos sucesivos de regresión lineal para la variable dependiente concentración de zinc en orina corregida con la creatinina con las variables predictoras: Sexo, edad, frecuencia fumador y zinc urinario.

ANOVA: Variable dependiente: Zinc en orina/CR						
Modelo		Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Significación
1	Regresión	3037363,936	1	3037363,936	16,903	Menor de 0,001**
	Residual	18328963,739	102	179695,723		
	Total	21366327,675	103			
Variables excluidas: Sexo, edad y frecuencia fumador.						
<i>Ecuación</i> $ZnO = 8,21 \cdot (ZnS) - 270,84$						

1 Variables predictoras: (Constante), Zinc en suero

** Significativa al 99,9%

VIII.- RELACIONES ENTRE ELEMENTOS TRAZA

La posible relación entre los elementos traza tratados en este trabajo se comprueba por la existencia de correlaciones lineales y la significación estadística del coeficiente de correlación de Pearson en los valores del grupo Control.

Puesto que el valor del coeficiente de correlación puede ser alterado en muestras sesgadas, con casos en los extremos (119), las variables que no siguen una distribución normal se transforman en el logaritmo de la variable, como también operan Ellingsen y colaboradores (136), y se excluyen los valores extremos o “outliers”, o valores que se alejan más de 1,5 veces la amplitud intercuartil por los extremos que establecen los percentiles 25 y 75. Ewers y colaboradores operan de una forma similar al excluir los valores “outliers” o extremos de los resultados para comprobar si influencia los resultados (389). De esta manera se obtienen los resultados de las Tablas VIII.2 y VIII.3.

Se comprueba si las correlaciones estadísticamente significativas en el grupo Control permanecen cuando se les agregan los valores del resto de los grupos. Así, se observa si en grupos con exposición, los valores elevados mantienen la correlación primitiva. En las Tablas VIII.4 y VIII.5 se indican las correlaciones obtenidas al tener en cuenta todos los valores de todos los grupos al aplicar correlaciones no paramétricas de Spearman para que los valores extremos no tengan la influencia que tendrían en una correlación de Pearson, al trabajar, en este caso, con las variables sin transformar para no excluir los valores extremos que son debidos a exposiciones al elemento.

En las variables de elementos traza en orina se establecen correlaciones con el sodio, potasio y cloro en orina, variables que son reflejo, entre otros factores, de la mayor o menor dilución de la orina, lo que parece indicar que la corrección de la dilución con la

creatinina no es perfecta. De hecho, la utilización de mercurio/creatinina es una solución de compromiso para poder tomar muestras fácilmente que, en general, salvo en orinas muy diluidas o muy concentradas, correlaciona bien con el mercurio 24 horas (68). Aunque en este trabajo se ha seguido la recomendación del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo de rechazar las muestras de orina muy diluidas y las muy concentradas (219), parece que los valores extremos afectan de forma significativa los resultados. Así, al excluir los valores por encima del percentil 90 o por debajo del percentil 10, la mayoría de las correlaciones estadísticamente significativas con el sodio, cloruros y potasio desaparecen, como se observa en la Tabla VIII.6.

Por lo tanto, se intenta trabajar sólo con aquellas correlaciones claras y robustas, que afectan a toda la población de los resultados no siendo el producto de unos pocos valores sesgados. Las correlaciones lineales que permanecen en las tres tablas se reflejan en la Tabla VIII.1.

Tabla VIII.1.- *Correlaciones entre los elementos traza que se observan tanto en el grupo Control, con variables normalizadas y sin valores extremos, y en todos los grupos, excluyendo en las orinas los valores por encima del percentil 90 y por debajo del percentil 10. (/CR= en orina corregida con creatinina).*

	Grupo Control			Todos los grupos		
	Correlación de Pearson			Correlación de Spearman		
	r	p	N	rho	p	N
Selenio sangre y Cadmio sangre	-0,239	0,002	165	-0,143	0,015	285
Selenio sangre y Mercurio sangre	0,438	<0,001	175	0,416	<0,001	283
Selenio sangre y Cobre en suero	-0,221	0,004	171	-0,125	0,039	275
Plomo sangre y Cadmio sangre	0,231	0,003	169	0,291	<0,001	297
Cobre orina/CR y Zinc orina/CR	0,431	<0,001	134	0,425	<0,001	257
Cobre orina/CR y Cadmio orina/CR	0,339	<0,001	136	0,331	<0,001	254
Cadmio sangre y Cadmio orina/CR	0,269	0,002	128	0,325	<0,001	242
Mercurio sangre y Mercurio orina/CR	0,424	<0,001	135	0,560	<0,001	245
Plomo sangre y Plomo orina/CR	0,442	<0,001	137	0,500	<0,001	242
Zinc suero y Zinc orina/CR	0,441	<0,001	133	0,444	<0,001	240

Tabla VIII.2.- Correlaciones de Pearson entre las variables de concentraciones de elementos traza en sangre y suero, y todas las variables en sangre, suero y orina del grupo Control. De todas las variables se han excluido los valores extremos o "outliers" (que se alejan más de 1,5 veces la amplitud intercuartil de los percentiles 25 y 75) y se han tomado logaritmos (log) para hacer que la variable siga una distribución normal cuando ésta no la cumplía. (Sa=Sangre; Su=Suero; /CR=en orina corregida con creatinina).

		Cd-sa (log)	Cu-Su	Hg-Sa (log)	Pb-Sa (log)	Se-Sa	Zn-Su
Coeficiente de correlación de Pearson	Cadmio en sangre (log)	1	0,121	-0,163*	0,231**	-0,239**	0,021
	Cobre en suero	0,121	1	-0,020	-0,068	-0,221**	0,023
	Mercurio en sangre (log)	-0,163*	-0,020	1	0,063	0,438**	-0,063
	Plomo en sangre (log)	0,231**	-0,068	0,063	1	0,002	0,051
	Selenio en sangre	-0,239**	-0,221**	0,438**	0,002	1	-0,067
	Zinc en sangre	0,021	0,023	-0,063	0,051	-0,067	1
	Cadmio en orina/CR (log)	0,269**	0,072	-0,013	0,112	-0,157	0,065
	Cobre en orina/CR (log)	0,056	0,148	-0,034	-0,005	-0,075	0,095
	Mercurio en orina/CR (log)	-0,020	0,034	0,424**	-0,205*	0,131	0,134
	Plomo en orina/CR (log)	0,003	0,008	-0,021	0,442**	-0,016	0,004
	Selenio en orina/CR (log)	-0,112	0,228*	0,093	-0,094	0,151	0,085
	Zinc en orina/CR (log)	0,085	0,025	-0,012	-0,015	-0,009	0,441**
	Cloruros en orina/CR (log)	-0,062	-0,088	0,123	-0,029	0,124	0,135
	Potasio en orina/CR (log)	0,051	0,109	0,180*	0,015	0,133	0,100
	Sodio en orina/CR (log)	-,143	-,032	,104	-,020	,151	,083
Significación	Cadmio en sangre (log)	,	0,124	0,035	0,003	0,002	0,784
	Cobre en suero	0,124	,	0,792	0,368	0,004	0,765
	Mercurio en sangre (log)	0,035	0,792	,	0,403	<0,001	0,404
	Plomo en sangre (log)	0,003	0,368	0,403	,	0,975	0,499
	Selenio en sangre	0,002	0,004	<0,001	0,975	,	0,381
	Zinc en sangre	0,784	0,765	0,404	0,499	0,381	,
	Cadmio en orina/CR (log)	0,002	0,411	0,883	0,196	0,069	0,456
	Cobre en orina/CR (log)	0,529	0,090	0,692	0,958	0,386	0,275
	Mercurio en orina/CR (log)	0,822	0,698	<0,001	0,017	0,133	0,123
	Plomo en orina/CR (log)	0,971	0,923	0,808	<0,001	0,851	0,960
	Selenio en orina/CR (log)	0,240	0,014	0,314	0,309	0,103	0,360
	Zinc en orina/CR (log)	0,341	0,778	0,893	0,862	0,921	<0,001
	Cloruros en orina/CR (log)	0,502	0,332	0,167	0,748	0,166	0,131
	Potasio en orina/CR (log)	0,579	0,224	0,041	0,867	0,135	0,261
	Sodio en orina/CR (log)	0,118	0,725	0,237	0,823	0,089	0,349
Número de casos	Cadmio en sangre (log)	171	163	167	169	165	167
	Cobre en suero	163	178	174	176	171	173
	Mercurio en sangre (log)	167	174	181	179	175	178
	Plomo en sangre (log)	169	176	179	184	177	179
	Selenio en sangre	165	171	175	177	179	174
	Zinc en sangre	167	173	178	179	174	181
	Cadmio en orina/CR (log)	128	132	136	136	134	135
	Cobre en orina/CR (log)	128	132	136	136	134	135
	Mercurio en orina/CR (log)	126	131	135	135	133	134
	Plomo en orina/CR (log)	128	133	137	137	135	136
	Selenio en orina/CR (log)	111	116	120	120	118	119
	Zinc en orina/CR (log)	127	130	134	134	132	133
	Cloruros en orina/CR (log)	119	124	128	128	126	127
	Potasio en orina/CR (log)	120	125	129	129	127	128
	Sodio en orina/CR (log)	121	126	130	130	128	129

* La correlación es significativa al 95%.

** La correlación es significativa al 99%.

Tabla VIII.3.- Correlaciones de Pearson entre las variables de concentraciones de elementos traza en orina, y todas las variables en sangre, suero y orina del grupo Control. De todas las variables se han excluido los valores extremos o "outliers" (que se alejan más de 1,5 veces la amplitud intercuartil de los percentiles 25 y 75) y se han tomado logaritmos (log) para hacer que la variable siga una distribución normal cuando ésta no la cumplía. (Sa=Sangre; Su=Sero; -CR=en orina corregida con creatinina).

		Cd-CR (log)	Cu-CR (log)	Hg-CR (log)	Pb-CR (log)	Se-CR (log)	Zn-CR (log)	Cl-CR (log)	K-CR (log)	Na-CR (log)
Coeficiente de correlación de Pearson	Cd-sa (log)	0,269**	0,056	-0,020	0,003	-0,112	0,085	-0,062	0,051	-0,143
	Cu-su	0,072	0,148	0,034	0,008	0,228*	0,025	-0,088	0,109	-0,032
	Hg-sa (log)	-0,013	-0,034	0,424**	-0,021	0,093	-0,012	0,123	0,180*	0,104
	Pb-sa (log)	0,112	-0,005	-0,205*	0,442**	-0,094	-0,015	-0,029	0,015	-0,020
	Se-sa	-0,157	-0,075	0,131	-0,016	0,151	-0,009	0,124	0,133	0,151
	Zn-su	0,065	0,095	0,134	0,004	0,085	0,441**	0,135	0,100	0,083
	Cd-CR (log)	1	0,339**	0,230**	0,184*	0,169	0,158	0,248**	0,340**	0,229**
	Cu-CR (log)	0,339**	1	0,125	0,167	0,159	0,431**	0,225*	0,308**	0,249**
	Hg-CR (log)	0,230**	0,125	1	-0,154	0,249**	0,063	0,239**	0,480**	0,142
	Pb-CR (log)	0,184*	0,167	-0,154	1	0,046	0,247**	0,183*	0,054	0,301**
	Se-CR (log)	0,169	0,159	0,249**	0,046	1	-0,034	0,318*	0,171	0,330*
	Zn-CR (log)	0,158	0,431**	0,063	0,247**	-0,034	1	0,334**	0,204*	0,303**
	Cl-CR (log)	0,248**	0,225*	0,239**	0,183*	0,318**	0,334**	1	0,530**	0,874**
	K-CR (log)	0,340**	0,308**	0,480**	0,054	0,171	0,204*	0,530**	1	0,408**
	Na-CR (log)	0,229**	0,249**	0,142	0,301**	0,330**	0,303**	0,874**	0,408**	1
Significación	Cd-sa (log)	0,002	0,529	0,822	0,971	0,240	0,341	0,502	0,579	0,118
	Cu-su	0,411	0,090	0,698	0,923	0,014	0,778	0,332	0,224	0,725
	Hg-sa (log)	0,883	0,692	<0,001	0,808	0,314	0,893	0,167	0,041	0,237
	Pb-sa (log)	0,196	0,958	0,017	<0,001	0,309	0,862	0,748	0,867	0,823
	Se-sa	0,069	0,386	0,133	0,851	0,103	0,921	0,166	0,135	0,089
	Zn-su	0,456	0,275	0,123	0,960	0,360	<0,001	0,131	0,261	0,349
	Cd-CR (log)	,	<0,001	0,007	0,032	0,066	0,067	0,005	<0,001	0,009
	Cu-CR (log)	<0,001	,	0,147	0,051	0,081	<0,001	0,010	<0,001	0,004
	Hg-CR (log)	0,007	0,147	,	0,073	0,006	0,471	0,006	<0,001	0,107
	Pb-CR (log)	0,032	0,051	0,073	,	0,619	0,004	0,037	0,542	<0,001
	Se-CR (log)	0,066	0,081	0,006	0,619	,	0,722	<0,001	0,065	<0,001
	Zn-CR (log)	0,067	<0,001	0,471	0,004	0,722	,	<0,001	0,021	0,001
	Cl-CR (log)	0,005	0,010	0,006	0,037	<0,001	<0,001	,	<0,001	<0,001
	K-CR (log)	<0,001	<0,001	<0,001	0,542	0,065	0,021	<0,001	,	<0,001
	Na-CR (log)	0,009	0,004	0,107	<0,001	<0,001	0,001	<0,001	<0,001	,
Número de casos	Cd-sa (log)	128	128	126	128	111	127	119	120	121
	Cu-su	132	132	131	133	116	130	124	125	126
	Hg-sa (log)	136	136	135	137	120	134	128	129	130
	Pb-sa (log)	136	136	135	137	120	134	128	129	130
	Se-sa	134	134	133	135	118	132	126	127	128
	Zn-su	135	135	134	136	119	133	127	128	129
	Cd-CR (log)	138	136	135	137	120	135	128	129	130
	Cu-CR (log)	136	138	135	137	121	134	129	130	131
	Hg-CR (log)	135	135	137	136	119	133	128	128	130
	Pb-CR (log)	137	137	136	139	122	135	130	131	131
	Se-CR (log)	120	121	119	122	122	109	116	117	116
	Zn-CR (log)	135	134	133	135	109	136	126	127	128
	Cl-CR (log)	128	129	128	130	116	126	130	128	130
	K-CR (log)	129	130	128	131	117	127	128	131	129
	Na-CR (log)	130	131	130	131	116	128	130	129	132

* La correlación es significativa al 95%.

** La correlación es significativa al 99%.

Tabla VIII.4.- Correlaciones no paramétricas de Spearman entre las variables de concentraciones de elementos traza en sangre y suero, y todas las variables en sangre, suero y orina de todos los grupos. (/CR=orina corregida con creatinina).

	Cd-sangre	Cu-suero	Hg-sangre	Pb-sangre	Se-sangre	Zn-suero
Coeficiente de correlación de Spearman	Cadmio en sangre	1	0,121*	-0,038	0,291**	-0,143**
	Cobre en suero	0,121*	1	-0,089	-0,076	-0,125*
	Mercurio en sangre	-0,038	-0,089	1	0,138*	0,416**
	Plomo en sangre	0,291**	-0,076	0,138*	1	0,004
	Selenio en sangre	-0,143*	-0,125*	0,416**	0,004	1
	Zinc en suero	-0,065	-0,045	-0,212**	0,001	-0,046
	Cadmio en orina/CR	0,325**	0,018	0,026	0,141*	-0,084
	Cobre en orina/CR	0,032	0,024	-0,027	-0,021	0,049
	Mercurio en orina/CR	0,002	-0,097	0,560**	0,063	0,117
	Plomo en orina/CR	0,090	-0,016	-0,009	0,500**	0,041
	Selenio en orina/CR	-0,088	0,169*	0,029	-0,126	0,258**
	Zinc en orina/CR	0,101	-0,002	-0,088	0,096	0,064
	Cloruros en orina/CR	0,026	-0,042	0,128	0,145*	0,194*
	Potasio en orina/CR	0,070	0,070	0,030	0,073	0,077
	Sodio en orina/CR	-0,130*	0,029	0,011	-0,011	0,274**
Significación	Cadmio en sangre	,	0,040	0,515	<0,001	0,015
	Cobre en suero	0,040	,	0,134	0,198	0,039
	Mercurio en sangre	0,515	0,134	,	0,018	<0,001
	Plomo en sangre	<0,001	0,198	0,018	,	0,949
	Selenio en sangre	0,015	0,039	<0,001	0,949	,
	Zinc en suero	0,268	0,449	<0,001	0,985	0,445
	Cadmio en orina/CR	<0,001	0,784	0,691	0,028	0,200
	Cobre en orina/CR	0,616	0,719	0,671	0,740	0,455
	Mercurio en orina/CR	0,970	0,140	<0,001	0,326	0,073
	Plomo en orina/CR	0,161	0,813	0,884	<0,001	0,531
	Selenio en orina/CR	0,180	0,011	0,662	0,054	<0,001
	Zinc en orina/CR	0,117	0,976	0,173	0,135	0,327
	Cloruros en orina/CR	0,695	0,532	0,052	0,027	0,004
	Potasio en orina/CR	0,286	0,300	0,647	0,269	0,253
	Sodio en orina/CR	0,048	0,666	0,862	0,870	<0,001
Número de casos	Cadmio en sangre	297	287	295	297	285
	Cobre en suero	287	287	285	287	275
	Mercurio en sangre	295	285	295	295	283
	Plomo en sangre	297	287	295	297	285
	Selenio en sangre	285	275	283	285	285
	Zinc en suero	290	285	290	290	278
	Cadmio en orina/CR	242	232	242	242	233
	Cobre en orina/CR	242	233	242	242	232
	Mercurio en orina/CR	245	235	245	245	235
	Plomo en orina/CR	242	232	242	242	233
	Selenio en orina/CR	234	224	234	234	224
	Zinc en orina/CR	244	235	244	244	234
	Cloruros en orina/CR	232	222	232	232	222
	Potasio en orina/CR	233	223	233	233	223
	Sodio en orina/CR	232	222	232	232	222

* La correlación es significativa al 95%

** La correlación es significativa al 99%

Tabla VIII.5.- Correlaciones no paramétricas de Spearman entre las variables de concentraciones de elementos traza en orina, y todas las variables en sangre, suero y orina de todos los grupos. (-CR=orina corregida con creatinina).

		Cd-CR	Cu-CR	Hg-CR	Pb-CR	Se-CR	Zn-CR	Cl-CR	K-CR	Na-CR
Coeficiente de correlación Spearman	CdS	0,325**	0,032	0,002	0,090	-0,088	0,101	0,026	0,070	-0,130*
	CuS	0,018	0,024	-0,097	-0,016	0,169*	-0,002	-0,042	0,070	0,029
	HgS	0,026	-0,027	0,560**	-0,009	0,029	-0,088	0,128	0,030	0,011
	PbS	0,141*	-0,021	0,063	0,500**	-0,126	0,096	0,145*	0,073	-0,011
	SeS	-0,084	0,049	0,117	0,041	0,258**	0,064	0,194**	0,077	0,274**
	Zn-su	0,049	0,023	-0,220**	0,126	0,099	0,444**	0,057	0,162*	0,164*
	Cd-CR	1	0,331**	0,062	0,287**	0,171*	0,201**	0,278**	0,355**	0,202**
	Cu-CR	0,331**	1	0,138*	0,146*	0,235**	0,425**	0,226**	0,234**	0,230**
	Hg-CR	0,062	0,138*	1	0,007	0,082*	-0,042	0,137*	0,078	-0,107
	Pb-CR	0,287**	0,146*	0,007	1	0,068	0,284**	0,285**	0,195**	0,283**
	Se-CR	0,171**	0,235**	0,082*	0,068	1	0,112	0,272**	0,121	0,317**
	Zn-CR	0,201**	0,425**	-0,042	0,284**	0,112	1	0,271**	0,270**	0,294**
	Cl-CR	0,278**	0,226**	0,137*	0,285**	0,272**	0,271**	1	0,572**	0,825**
	K-CR	0,355**	0,234**	0,078	0,195**	0,121*	0,270**	0,572**	1	0,448**
	Na-CR	0,202**	0,230**	-0,107	0,283**	0,317**	0,294**	0,825**	0,448**	1
Significación	CdS	<0,001	0,616	0,970	0,161	0,180	0,117	0,695	0,286	0,048
	CuS	0,784	0,719	0,140	0,813	0,011	0,976	0,532	0,300	0,666
	HgS	0,691	0,671	<0,001	0,884	0,662	0,173	0,052	0,647	0,862
	PbS	0,028	0,740	0,326	<0,001	0,054	0,135	0,027	0,269	0,870
	SeS	0,200	0,455	0,073	0,531	<0,001	0,327	0,004	0,253	<0,001
	Zn-su	0,451	0,727	0,001	0,053	0,136	<0,001	0,395	0,014	0,013
	Cd-CR	,	<0,001	0,323	<0,001	0,007	0,001	<0,001	<0,001	0,002
	Cu-CR	<0,001	,	0,027	0,020	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Hg-CR	0,323	0,027	,	0,916	0,196	0,500	0,031	0,224	0,094
	Pb-CR	<0,001	0,020	0,916	,	0,290	<0,001	<0,001	0,002	<0,001
	Se-CR	0,007	<0,001	0,196	0,290	,	0,077	<0,001	0,060	<0,001
	Zn-CR	0,001	<0,001	0,500	<0,001	0,077	,	<0,001	<0,001	<0,001
	Cl-CR	<0,001	<0,001	0,031	<0,001	<0,001	<0,001	,	<0,001	<0,001
	K-CR	<0,001	<0,001	0,224	0,002	0,060	<0,001	<0,001	,	<0,001
	Na-CR	0,002	<0,001	0,094	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	,
Número de casos	CdS	242	242	245	242	234	244	232	233	232
	CuS	232	233	235	232	224	235	222	223	222
	HgS	242	242	245	242	234	244	232	233	232
	PbS	242	242	245	242	234	244	232	233	232
	SeS	233	232	235	233	224	234	222	223	222
	Zn-su	237	238	240	237	229	240	227	228	227
	Cd-CR	257	254	257	257	246	256	244	245	244
	Cu-CR	254	257	257	254	247	257	245	246	245
	Hg-CR	257	257	260	257	249	259	247	248	247
	Pb-CR	257	254	257	257	246	256	244	245	244
	Se-CR	246	247	249	246	249	248	241	242	241
	Zn-CR	256	257	259	256	248	259	246	247	246
	Cl-CR	244	245	247	244	241	246	247	245	245
	K-CR	245	246	248	245	242	247	245	248	244
	Na-CR	244	245	247	244	241	246	245	244	247

* La correlación es significativa al 95%

** La correlación es significativa al 99%

Tabla VIII.6.- Correlaciones no paramétricas de Spearman entre las variables de concentraciones de elementos traza en orina, y todas las variables en sangre, suero y orina de todos los grupos. A las variables de elementos en orina se les ha excluido los valores por encima del percentil 90 y por debajo del percentil 10 para evitar correlaciones debidas a orinas muy diluidas o muy concentradas (1). (Sa=Sangre; Su=Suelo; -CR=en orina corregida con creatinina).

		Cd-CR	Cu-CR	Hg-CR	Pb-CR	Se-CR	Zn-CR	Cl-CR	K-CR	Na-CR
		(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
Coeficiente de correlación de Spearman	Cd-sa	0,226**	0,026	-0,081	0,106	-0,160*	0,143*	0,012	0,028	-0,129
	Cu-su	-0,011	0,003	-0,082	-0,043	0,116	0,019	-0,031	0,014	-0,015
	Hg-sa	0,123	-0,036	0,387**	0,079	0,033	-0,080	0,109	0,037	0,015
	Pb-sa	0,143*	-0,125	-0,023	0,382**	-0,057	0,049	0,155*	-0,008	-0,036
	Se-sa	0,002	0,061	0,014	0,066	0,200**	-0,007	0,097	0,024	0,296**
	Zn-su	-0,085	-0,009	-0,188**	0,008	0,014	0,358**	-0,049	0,072	0,143
	Cd-CR (1)	1	0,222**	0,084	0,093	0,096	0,098	0,173*	0,079	0,038
	Cu-CR (1)	0,222**	1	0,135	-0,033	0,076	0,329**	0,168*	-0,031	0,094
	Hg-CR (1)	0,084	0,135	1	-0,026	-0,045	0,046	0,082	0,137	-0,143
	Pb-CR (1)	0,093	-0,033	-0,026	1	-0,104	0,095	0,226**	0,035	0,152
	Se-CR (1)	0,096	0,076	-0,045	-0,104	1	-0,042	0,109	-0,089	0,184*
	Zn-CR (1)	0,098	0,329**	0,046	0,095	-0,042	1	0,164*	0,126	0,176*
	Cl-CR (1)	0,173*	0,168*	0,082	0,226**	0,109	0,164*	1	0,332**	0,657**
	K-CR (1)	0,079	-0,031	0,137	0,035	-0,089	0,126	0,332**	1	0,155*
Na-CR (1)	0,038	0,094	-0,143	0,152	0,184*	0,176*	0,657**	0,155*	1	
Significación	Cd-sa	0,002	0,716	0,247	0,137	0,029	0,038	0,870	0,698	0,080
	Cu-su	0,878	0,970	0,246	0,562	0,123	0,788	0,676	0,848	0,842
	Hg-sa	0,087	0,614	<0,001	0,271	0,659	0,247	0,141	0,613	0,835
	Pb-sa	0,047	0,083	0,741	<0,001	0,438	0,485	0,035	0,915	0,625
	Se-sa	0,981	0,409	0,842	0,367	0,008	0,923	0,200	0,745	<0,001
	Zn-su	0,244	0,903	0,007	0,907	0,854	<0,001	0,513	0,332	0,054
	Cd-CR (1)	,	0,004	0,274	0,225	0,227	0,196	0,028	0,309	0,631
	Cu-CR (1)	0,004	,	0,076	0,668	0,327	<0,001	0,033	0,697	0,240
	Hg-CR (1)	0,274	0,076	,	0,742	0,573	0,540	0,290	0,079	0,068
	Pb-CR (1)	0,225	0,668	0,742	,	0,192	0,203	0,004	0,652	0,050
	Se-CR (1)	0,227	0,327	0,573	0,192	,	0,580	0,173	0,261	0,022
	Zn-CR (1)	0,196	<0,001	0,540	0,203	0,580	,	0,030	0,096	0,018
	Cl-CR (1)	0,028	0,033	0,290	0,004	0,173	0,030	,	<0,001	<0,001
	K-CR (1)	0,309	0,697	0,079	0,652	0,261	0,096	<0,001	,	0,048
Na-CR (1)	0,631	0,240	0,068	0,050	0,022	0,018	<0,001	0,048	,	
Número de casos	Cd-sa	193	194	205	197	185	209	185	190	186
	Cu-su	183	187	204	187	177	200	180	182	179
	Hg-sa	193	194	205	197	185	209	185	190	186
	Pb-sa	193	194	205	197	185	209	185	190	186
	Se-sa	184	185	195	189	175	201	175	181	176
	Zn-su	188	191	204	192	181	205	182	186	183
	Cd-CR (1)	207	167	171	172	161	176	162	166	162
	Cu-CR (1)	167	207	172	169	167	181	161	158	159
	Hg-CR (1)	171	172	211	169	162	179	167	165	164
	Pb-CR (1)	172	169	169	207	159	183	164	165	166
	Se-CR (1)	161	167	162	159	200	177	157	160	154
	Zn-CR (1)	176	181	179	183	177	223	176	176	179
	Cl-CR (1)	162	161	167	164	157	176	199	168	182
	K-CR (1)	166	158	165	165	160	176	168	200	164
Na-CR (1)	162	159	164	166	154	179	182	164	199	

* La correlación es significativa al 95%

** La correlación es significativa al 99%

IX.- PERSONAL EXPUESTO AL MERCURIO

Al realizar correlaciones no paramétricas de Spearman sobre las distintas variables de este trabajo (Tabla IX.2) se observa que en el grupo de trabajadores de cloroaústicas el mercurio sanguíneo correlaciona con:

- Selenio en sangre
- Selenio en orina
- Cobre en orina
- Mercurio en orina

Y el mercurio en orina correlaciona con:

- Cadmio en orina
- Cobre en orina
- Plomo en orina
- Selenio en orina
- Zinc en orina

En la figura IX.1 se puede observar que, mientras la concentración de mercurio en sangre se encuentra aumentada en el grupo Cloroaústicas, la concentración de selenio en sangre se mantiene en todos los grupos. Sin embargo, como se observa en la figura IX.3, la correlación positiva entre el mercurio y el selenio sanguíneos se mantiene en el grupo Cloroaústicas con una pendiente similar.

Tabla IX.1.- Estadísticos de las variables concentración de mercurio en sangre y concentración de selenio en sangre en los grupos Control, Dentistas y Cloroaústicas.

GRUPO		Mercurio en sangre ($\mu\text{g/L}$)	Selenio en sangre ($\mu\text{g/L}$)
CONTROL	Media	7,9	118
	Mediana	6,2	118
	Desviación estándar	6,888	26,43
	Amplitud	0,7-49	58-248
DENTISTAS	Media	9,6	121
	Mediana	8,6	121
	Desviación estándar	4,673	13,66
	Amplitud	3-23	88-144
CLOROCAÚSTICAS	Media	14,3	118
	Mediana	14,0	118
	Desviación estándar	6,598	18,00
	Amplitud	4-32	85-172

Tabla IX.2.- Correlaciones de Spearman en el grupo cloroaústicos. (/CR= en orina corregida con creatinina).

	Mercurio en sangre	Mercurio en orina/CR
Coeficiente de correlación de Spearman	Cadmio en sangre	0,282
	Cobre en suero	-0,086
	Mercurio en sangre	1
	Plomo en sangre	-0,089
	Selenio en sangre	0,617**
	Zinc en suero	-0,295
	Cadmio en orina/CR	0,250
	Cobre en orina/CR	0,429**
	Mercurio en orina/CR	0,586**
	Plomo en orina/CR	0,101
	Selenio en orina/CR	0,407**
	Zinc en orina/CR	0,148
	Cloro en orina/CR	0,040
	Potasio en orina/CR	0,003
	Sodio en orina/CR	0,041
	Edad	0,000
	Número de empastes de amalgama	-0,259
	Número de cigarrillos/día	0,118
	Frecuencia consumo pescado	0,209
'Significación	Cadmio en sangre	0,071
	Cobre en suero	0,638
	Mercurio en sangre	,
	Plomo en sangre	0,573
	Selenio en sangre	<0,001
	Zinc en suero	0,076
	Cadmio en orina/CR	0,110
	Cobre en orina/CR	0,005
	Mercurio en orina/CR	<0,001
	Plomo en orina/CR	0,525
	Selenio en orina/CR	0,008
	Zinc en orina/CR	0,356
	Cloro en orina/CR	0,801
	Potasio en orina/CR	0,987
	Sodio en orina/CR	0,798
	Edad	0,999
	Número de empastes de amalgama	0,101
	Número de cigarrillos/día	0,456
	Frecuencia consumo pescado	0,185
Número de casos	Cadmio en sangre	42
	Cobre en suero	32
	Mercurio en sangre	42
	Plomo en sangre	42
	Selenio en sangre	42
	Zinc en suero	37
	Cadmio en orina/CR	42
	Cobre en orina/CR	41
	Mercurio en orina/CR	42
	Plomo en orina/CR	42
	Selenio en orina/CR	42
	Zinc en orina/CR	41
	Cloro en orina/CR	42
	Potasio en orina/CR	42
	Sodio en orina/CR	42
	Edad	42
	Número de empastes de amalgama	41
	Número de cigarrillos/día	42
	Frecuencia consumo pescado	42

*Correlación estadísticamente significativa al 95%

**Correlación estadísticamente significativa al 99%

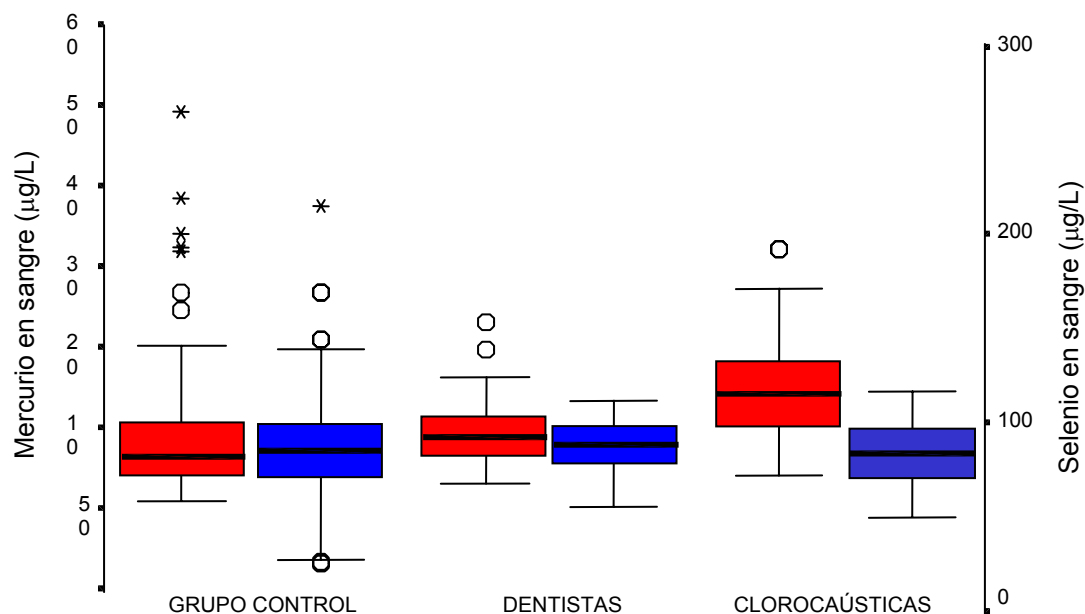


Figura IX.1.- Diagramas de caja que representan las distribuciones de selenio (azul) y mercurio (rojo) en sangre en los grupos Control, Dentistas y Clorocaústicas.

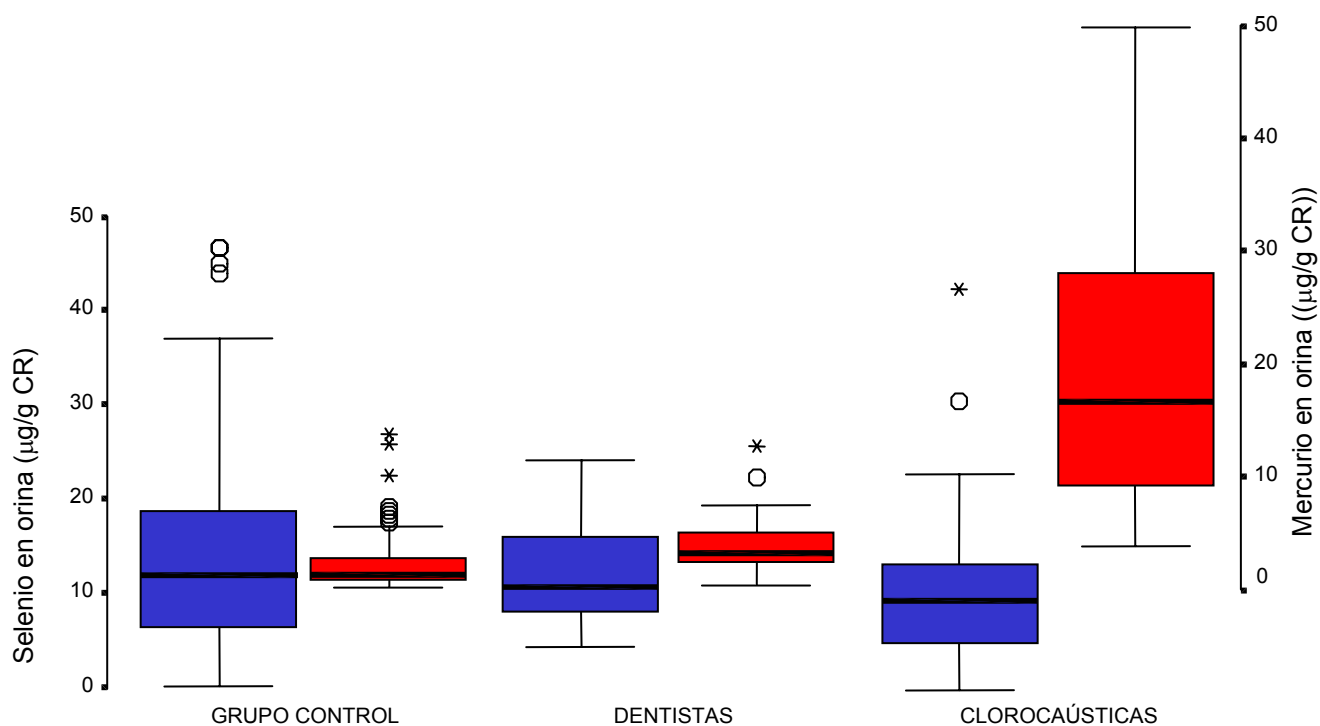


Figura IX.2.- Diagramas de caja que representan las distribuciones de selenio (azul) y mercurio (rojo) en orina en los grupos Control, Dentistas y Clorocaústicas.

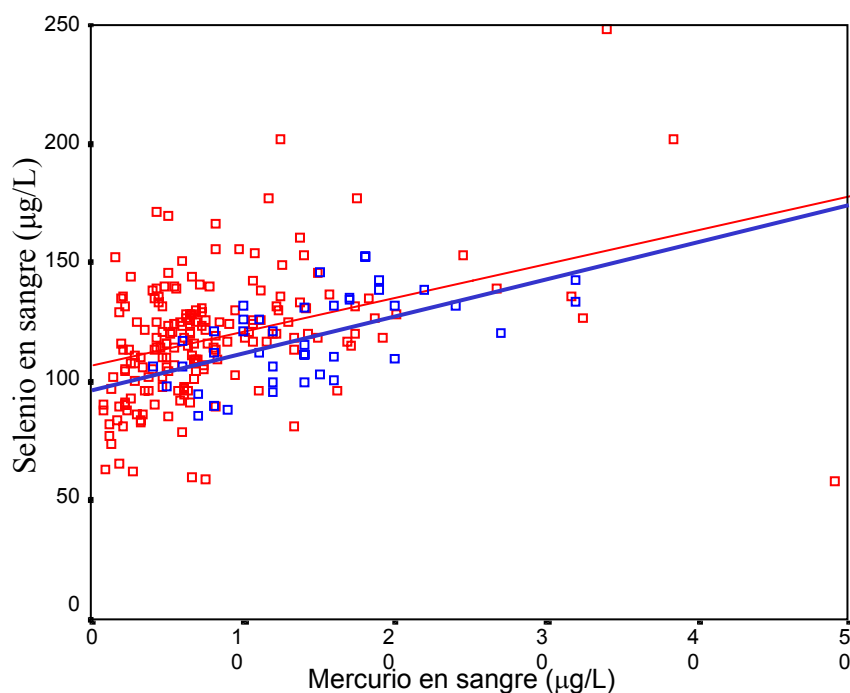


Figura IX.3.- Representación gráfica de la concentración de mercurio en sangre frente a la concentración de selenio en sangre distinguiendo entre el grupo Cloroacéticas (en azul) y el grupo Control (en rojo).

En el grupo Cloroacéticas, al contrario de lo que ocurre en el grupo Control, la concentración de mercurio en sangre mantiene una correlación positiva estadísticamente significativa con la concentración de selenio en orina corregida con la creatinina. Sin embargo, la concentración media y la mediana de selenio en orina son inferiores a las correspondientes del grupo Control. Cuando se subdivide el grupo Cloroacéticas en dos grupos por encima y por debajo de la mediana de mercurio en sangre y otros dos grupos por encima y debajo de la mediana de mercurio en orina se comprueba que sólo mantienen correlación estadísticamente significativa, entre el selenio urinario y el mercurio sanguíneo o urinario, aquellos que pertenecen a los grupos de mayor concentración de mercurio, tanto en orina como en sangre (ver Tabla IX.4).

Tabla IX.3.- Estadísticos descriptivos de la concentración de mercurio en sangre, la concentración de mercurio en orina y la concentración de selenio en orina corregida con la creatinina en los grupos expuestos al mercurio: Clorocaústicas y Dentistas; comparados con los del grupo Control.

		Selenio en orina (µg/g CR)	Mercurio en sangre (µg/L)	Mercurio en orina (µg/g CR)
Grupo Control	Media	14,0	7,9	2,0
	Mediana	12,1	6,2	1,1
	Desv. Est.	10,43	6,89	2,168
	Amplitud	LD-47	0,7-49	0,1-13,6
Dentistas	Media	12,3	9,6	3,9
	Mediana	10,6	8,6	3,1
	Desv. Est.	5,84	4,67	2,593
	Amplitud	4-24	3-23	0,4-12,6
Clorocaústicas	Media	10,0	14,3	19,4
	Mediana	9,2	14,0	16,5
	Desv. Est.	7,51	6,60	13,139
	Amplitud	LD-43	4-32	3,7-49,6

Tabla IX.4.- Correlaciones no paramétricas de Spearman entre las variables concentración de mercurio en sangre y concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina, con concentración la variable concentración de selenio en orina corregida con la creatinina en el grupo Clorocaústicas distinguiendo esta última variable, dentro del mismo grupo, según la concentración de mercurio en sangre, por una parte, y la concentración de mercurio en orina, por otra.

Selenio en orina				Mercurio en orina/CR	Mercurio en sangre
	Variable	Mediana	Media		
Coeficiente de correlación de Spearman	(Todos)	10,0	9,5	0,509**	0,407**
	Cuando Hg en orina <15	6,8	6,5	0,113	-0,019
	Cuando Hg en orina ≥15	12,9	12,3	0,398*	0,517*
	Cuando Hg en sangre <14	6,4	6,2	0,093	-0,129
	Cuando Hg en sangre ≥14	12,6	12,4	0,489*	0,429*
Significación	(Todos)			<0,001	0,008
	Cuando Hg en orina <15			0,574	0,930
	Cuando Hg en orina ≥15			0,030	0,023
	Cuando Hg en sangre <14			0,705	0,598
Número de casos	Cuando Hg en sangre ≥14			0,018	0,041
	(Todos)	57	57	57	42
	Cuando Hg en orina <15	27	27	27	23
	Cuando Hg en orina ≥15	30	30	30	19
	Cuando Hg en sangre <14	19	19	19	19
	Cuando Hg en sangre ≥14	23	23	23	23

* Correlación estadísticamente significativa al 95%

** Correlación estadísticamente significativa al 99%

En la Tabla IX.5 se observan las medias y medianas de las variables de los distintos elementos traza en orina en el grupo Control y los grupos expuestos al mercurio.

Tabla IX.5.- Estadísticos descriptivos de las concentraciones de elementos traza en orina en el grupo Control y los grupos expuestos al mercurio.

VARIABLE	GRUPO	Media	Mediana	Desviación Estándar
Cadmio en orina (µg/g CR)	<i>Grupo Control</i>	0,5	0,4	0,47
	<i>Dentistas</i>	0,5	0,4	0,45
	<i>Clorocaústicas</i>	0,4	0,3	0,42
Cobre orina (µg/g CR)	<i>Grupo Control</i>	8	6	5,67
	<i>Dentistas</i>	8	7	4,51
	<i>Clorocaústicas</i>	11	6	27,47
Plomo en orina (µg/g CR)	<i>Grupo Control</i>	5	3	4,17
	<i>Dentistas</i>	3	2	1,49
	<i>Clorocaústicas</i>	5	3	3,88
Zinc en orina (mg/g CR)	<i>Grupo Control</i>	0,67	0,54	0,449
	<i>Dentistas</i>	0,45	0,36	0,271
	<i>Clorocaústicas</i>	0,51	0,43	0,346

DISCUSIÓN

I.- MERCURIO

1.- SANGRE

La media aritmética encontrada en el grupo Control fue de 7,9 µg/L, similar a la obtenida por Mazarrasa (318), 10,1 µg/L, en una población no expuesta laboralmente en España, pero más elevada que las observadas en otros países, como se puede observar en la Tabla I.1, aunque dentro de los límites normales marcados por la OMS, según la cual, los valores de referencia de mercurio en individuos no expuestos son inferiores a 8 µg/L en sangre total (383) y más en concreto, para personas sin consumo de pescado con altas concentraciones de mercurio, es del orden de 5 a 10 µg/L. Sin embargo, la Comisión para la Monitorización Biológica Humana de la Agencia Federal de Medioambiente de Alemania, indica un valor de referencia de 2 µg/L (145). Las diferencias encontradas en los niveles de mercurio sanguíneo parecen tener una explicación en los diferentes consumos de pescado según la zona y país debido a la distinta dieta y medioambiente (14), como observan Langworth y colaboradores, en 1991, entre las diferentes regiones de Suecia (264).

Tabla I.1.- Concentración de mercurio en sangre encontrados por distintos autores. (* =Mediana)

Autores	Grupo	N	Hg en sangre (µg/L)	Amplitud (min-max) (µg/L)	Edad media (años)	Intervalo de edad (años)	País
Presente Trabajo	Grupo Control	184	7,9	1,4-19,0	45	15-84	España
(318) Mazarrasa, 1985	Grupo Control	94	10,1	0-21	47	27-62	España
(35) Barregard et al, 1990	Grupo Control	39	3,4	1,6-12	37	18-61	Suecia
(264) Langworth et al, 1991	Grupo Control	75	3,0	0,2-13	43	(21-64)	Suecia
(16) Akesson et al, 1991	Grupo Control	81	3,4	1,2-4,1	38		Suecia
(234) Jokstad et al, 1992	----	115	5	0,6-14,2	33*	(3-87)	Noruega
(180) Grandjean et al, 1992	----	198	1,4	<1-4,4			Dinamarca
(134) Ellingsen et al, 1993	Grupo Control	50	5,6	3,0-12,8	46	(24-64)	Noruega
(388) Oskarsson et al, 1996	Mujeres lactantes	30	2,3	0,9-4,6	30		Suecia
(447) Sallsten y Barregard, 1997	Grupo Control	39	3,0	1,6-12	36	18-61	Suecia
(565) White y Sabbioni, 1998	----	99	1,1	0,1-5,4			G. Bretaña
(246) Kingman et al, 1998	Militares	1127	2,6	LD-23	53	(40-78)	EE.UU.
(308) Mahaffey et al, 1998)	----	288	1,1	(0,1-4,81)		(20-69)	Canadá
(111) de Kom et al, 1998	Grupo Control	17	26,8		26		Brasil

De hecho, el consumo de pescado aparece como una importante variable que influencia la concentración de mercurio en sangre (78) (121) (497) (381) (180) (300) (264). En el presente trabajo, se observa una diferencia estadísticamente significativa entre los distintos grupos de frecuencia en el consumo de pescado, con una correlación de Pearson entre la concentración de mercurio en sangre y la frecuencia en el consumo de pescado de 0,438 ($N=179$; $p<0,001$). Dicha correlación también aparece reflejada en la bibliografía consultada (264) (180) (121) (308). Brune y colaboradores, en 1991, obtienen unos valores de referencia de mercurio en sangre, a partir de los datos recogidos de 98 publicaciones, en relación con el consumo de pescado, que se asemejan a los encontrados en el presente trabajo (ver Tablas I.2 y I.3).

Tabla I.2.- Valores de referencia de mercurio en sangre obtenidos por Brune y colaboradores, en 1991, a partir de los datos recogidos de 98 publicaciones. Tomado de (59) Brune y colaboradores, 1991.

Consumo de pescado (veces/semana)	Media ($\mu\text{g/L}$)	Percentil 10 y 90 ($\mu\text{g/L}$)	Percentil 25 y 75 ($\mu\text{g/L}$)	Número de sujetos
0	2,0	0-4,3	0,8-3,2	223
<2	4,8	2,4-7,2	3,5-6,1	39
2-4	8,4	2,6-14,2	5,4-11,4	658
>4	44,4	6,1-82,7	24,4-64,4	613
Desconocido	5,8	1,2-10,4	3,4-8,2	3182

Tabla I.3.- Resultados en el presente trabajo de la concentración de mercurio en sangre en el grupo Control en función de las veces de consumo a la semana de pescado.

Consumo de pescado (veces/semana)	Mercurio en sangre ($\mu\text{g/L}$)					
	N	Media	Mediana	Percentil 25 y 75 ($\mu\text{g/L}$)	Mínimo	Máximo
Nada	5	2,0	1,9	0,8-3,2	0,7	4,3
1 a 2 veces	94	5,8	5,3	3,2-7,3	1,0	15,6
3 a 4 veces	56	9,3	7,0	4,9-12,2	0,7	32,3
5 a 6 veces	18	13,9	11,5	11,5-18,3	4,0	38,3
Más de 6 veces	6	15,1	8,5	8,5-23,4	3,9	49,0
Total	179	7,9	6,2	3,9-10,5	0,7	49,0

La correlación encontrada en este trabajo entre la concentración de mercurio en sangre y la edad, aparece también reflejada en los trabajos de Akesson y colaboradores (16), Jokstad y colaboradores (234), Gothe y Langworth (177), Ellingsen y colaboradores (134), Barregard y colaboradores (35) y Langworth y colaboradores (264), aunque no aparece en el trabajo de Hock y colaboradores (208) sobre un grupo control de 65 pacientes con distintas enfermedades no psiquiátricas y 36 años de edad media, ni en el trabajo de Mahaffey y Mergler (308) con 288 personas residentes en Quebec. El aumento en la concentración de mercurio sanguíneo parece ser debido un aumento del contenido de mercurio corporal con la edad al ser elevada la vida media del mercurio sanguíneo,

principalmente la del mercurio orgánico (383) (270) (259) (215) (163) que es el que mayor influencia tiene en la concentración de mercurio en sangre de personas laboralmente no expuestas (263) (264) (121) (381) (234) (526), y acumularse con facilidad (259).

Existen muy pocos trabajos que estudien la concentración de mercurio en sangre de forma separada en hombres y mujeres. Al igual que Hock y colaboradores (208), en nuestros resultados no aparece una diferencia estadísticamente significativa entre la concentración de mercurio en sangre en hombres y mujeres. En todo caso, los datos son contradictorios, mientras que Akagi y colaboradores, en 1995, (15) encuentran valores en mercurio sanguíneo 1,5 veces más elevados en mujeres que en hombres, Lommel y colaboradores (292), en 1992, encuentran una mayor concentración de mercurio en sangre en su población de 15 hombres que en la de mujeres (N=28). Mahaffey y Mergler (308) atribuyen la diferencia que encuentran entre los hombres y mujeres al mayor consumo de pescado por parte de los hombres en su grupo de trabajo (308).

Nuestros resultados no indican una clara correlación entre la concentración de mercurio en sangre y el hábito de fumar. Aunque, en un principio aparece una correlación inversa con el número de cigarrillos fumados al día, dicha correlación parece ser reflejo de la correlación existente en nuestro grupo Control entre la edad y el mayor o menor consumo de tabaco, dado que no aparece diferencia estadísticamente significativa entre la concentración de mercurio en sangre de los fumadores y los no fumadores y por desaparecer dicha correlación al dividir la variable concentración de mercurio en sangre por la variable edad, para así anular su posible influencia. No obstante Barregard y colaboradores (35), en 1990, observan una tendencia a una menor concentración de mercurio en sangre, aunque sólo estadísticamente significativa en el caso de la concentración de mercurio en el plasma. En el resto de la bibliografía consultada no se observa ninguna correlación entre el hábito de fumar y la concentración de mercurio en sangre (16) (264) (265) (318).

Aunque el mercurio orgánico se encuentra especialmente concentrado en los hematíes (497) (383) (90) (532) (564) (270) (163), no se observa correlación estadísticamente significativa entre el mercurio sanguíneo y el número de eritrocitos. Tampoco se

observa ningún tipo de relación con la variable relación peso y talla, aunque no se han encontrados datos que correlacionen las citadas variables en la bibliografía.

En nuestros resultados no aparece ninguna correlación estadísticamente significativa entre el número de empastes de amalgama y la concentración de mercurio en sangre, al igual que lo indicado en la mayor parte de la bibliografía consultada (78) (234) (264) (134) (121). Sin embargo, algunos autores citan una correlación positiva, estadísticamente significativa entre la concentración de mercurio en sangre y el número de empastes de amalgama (246) (16) (180). No es de extrañar esta divergencia, puesto que, cuando la exposición al mercurio es baja, por ejemplo en el caso de los empastes dentales de amalgama, es difícil encontrar una asociación entre los niveles de exposición y las concentraciones en sangre debido al consumo de metilmercurio a través del pescado de la dieta que lo enmascara (381). La concentración de mercurio en sangre está influenciada de forma insignificante por el número de empastes de amalgama, reflejando, principalmente, la ingestión de metilmercurio (234) (263) (264) (121) (381) (234) (526).

La relación entre el mercurio urinario y el sanguíneo varía de unos estudios a otros y no se conoce bien si la relación es constante a diferentes niveles de exposición (381). Existe una alta variabilidad interindividual en la concentración del mercurio urinario (549) (34) (270), de mayor magnitud que la que se aprecia en la concentración de mercurio en sangre (177), pudiendo dar concentraciones muy elevadas en sangre y muy débiles en orina (581). Después de una exposición prolongada y constante a mercurio se obtienen correlaciones entre la concentración de mercurio en el aire, la concentración de mercurio sanguínea y la concentración de mercurio urinaria (433) (93) (494) (433).

Según nuestros resultados, la correlación entre el mercurio urinario y el sanguíneo en personas no expuestas laboralmente ($N=140$; $r=0,416$; $p<0,001$) es estadísticamente significativa con un grado de significación menor de 0,001, y sigue permaneciendo estadísticamente significativa al excluir aquellos casos que sobrepasan 1,5 veces la amplitud intercuartil, denominados valores extremos o, según la denominación inglesa, "outliers" ($N=129$; $r=0,309$; $p<0,001$), o incluso, al excluir el diez por ciento de los casos por ambas colas utilizando sólo los resultados incluidos en los percentiles 10 y 90

(N= 96; $r=0,249$; $p=0,014$). Dicha correlación es también observada por otros autores al comparar las citadas variables en personas no expuestas laboralmente:

- (246) Kingman et al, 1998 (N=1127; $r=0,19$; $p<0,05$)
- (264) Langworth et al, 1991 (BHg = $10,9 + 3,45\text{UHg/CR}$) (N=75; $r=0,33$, $p=0,004$)
- (16) Akesson y colaboradores, 1991 (N=319; $r=0,5$; $p=0,001$)
- (35) Barregard y colaboradores, 1990 (N=39; $r=0,31$; $p<0,01$)
- (429) Ritz y colaboradores, 1998 (N=830 niños de 5 a 14 años; $r=0,4$ $p<0,001$)

Debido a la variabilidad interindividual, la correlación puede no aparecer en personas no expuestas a mercurio inorgánico, como así sucede en los trabajos de (234) (111) y (134). Dado que el 90% del metilmercurio se elimina por heces (383), cuando la exposición tiene su origen principalmente del pescado y, por lo tanto, de compuestos orgánicos de mercurio, la proporción de mercurio en orina procedente del consumo de pescado es pequeña, no siendo útil para determinar la exposición al mismo (383) (270) (163). Como en la sangre sí se refleja el consumo de mercurio orgánico, la correlación entre la concentración de mercurio en sangre y la concentración de mercurio en orina puede no existir.

En el caso de personal laboralmente expuesto, y concretamente en el grupo más expuesto el grupo Clorocaústicas, existe una clara correlación estadísticamente significativa entre el mercurio sanguíneo y urinario (N=42; $\rho=0,586$; $p<0,001$). Dicha correlación aparece también claramente en la bibliografía. Gothe, estudiando la concentración de mercurio en sangre y orina de 185 trabajadores expuestos, encuentra una correlación significativa entre los dos parámetros con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,51 (177). Mazarrasa y colaboradores, en un grupo de 58 trabajadores expuestos, encuentran un coeficiente de correlación de Pearson de 0,67 (N=58; $p<0,01$) (317). Dicha correlación sangre orina es importante desde el punto de vista analítico puesto que facilita la monitorización a la exposición al mercurio al poder utilizar un espécimen de obtención no invasiva. Así, después de una exposición prolongada y constante a mercurio se obtienen correlaciones entre la concentración de mercurio en el

aire, la concentración de mercurio sanguínea y la concentración de mercurio urinaria (433).

2.- ORINA

Parte de los datos de mercurio en orina de la bibliografía se encuentran referidos a orina de 24 horas, por lo que para poder realizar una comparación aproximada a los datos referidos a creatinina debemos tener en cuenta que la excreción normal de creatinina en orina es de 1,0 a 1,6 g/día (148). De esta manera una excreción diaria de 1 microgramo de mercurio equivaldrían aproximadamente, a 0,769 (1/1,3) microgramos de mercurio por gramo de creatinina, que concuerda con el valor de la pendiente de la recta de regresión, 0,75, obtenido por Kingman y colaboradores (246), en 1998, entre las concentraciones de mercurio en orina de 1127 personas referidas a 24 horas y referidas a gramos de creatinina en orina.

La concentración media de mercurio en orina corregida con la creatinina en el grupo Control, 2,0 µg Hg/g CR, se encuentra dentro de los límites establecidos en la bibliografía como “normales”. Así, Barregard indica que la concentración de mercurio en orina de individuos no expuestos con un moderado consumo moderado de pescado en Suecia es de 2 a 3 µg/g de creatinina (36). O también, teniendo en cuenta el factor de conversión indicado anteriormente, se encontraría dentro del valor normal indicado por Lauwerys (270), en 1994, menor de 5 µg/L (aproximadamente 3,8 µg Hg/g CR). O de menor de 4 µg/L (aproximadamente 3,1 µg Hg/g CR) indicado por la OMS (383), en 1990. Además, las concentraciones medias de mercurio en orina encontradas en la bibliografía en poblaciones no expuestas son prácticamente idénticas a las obtenidas en el presente trabajo (ver Tabla I.4), que no se corresponde con la menor concentración sanguínea en las mismas regiones, por lo que parece evidente que la orina no es útil para determinar la exposición al metilmercurio dada la pequeña cantidad excretada por esta vía (383) (270) (163). Por lo tanto, sorprende el valor de referencia 1 µg Hg/g CR, marcado por la comisión para la monitorización biológica humana de la agencia federal

de medioambiente de Alemania para adultos con un consumo de pescado inferior o igual a 3 veces por semana (145).

Tabla I.4. - *Concentración de mercurio en sangre encontrados por distintos autores. (* =Mediana).*

<i>Autores</i>	<i>Grupo</i>	<i>N</i>	<i>Media de Hg en orina (µg Hg/g CR)</i>	<i>Amplitud (min-max) (µg Hg/g CR)</i>	<i>Edad media (años)</i>	<i>Intervalo de edad (años)</i>	<i>País</i>
Presente trabajo	Grupo Control	140	2,0	0,1-13,6	43	15-76	España
(318) Mazarrasa, 1985	Grupo Control	94	2,6	0-42	47	27-62	España
(35) Barregard et al, 1990	Grupo Control	39	3,5	0,9-8,9	37	18-61	Suecia
(264) Langworth et al, 1991	Grupo Control	75	2,0	LD-7,6	43	(21-64)	Suecia
(16) Akesson et al, 1991	Grupo Control	81	2,0	0,2-10,3	38		Suecia
(234) Jokstad et al, 1992	----	115	3,5 µg/L	0,4-16 µg/L	33*	(3-87)	Noruega
(134) Ellingsen et al, 1993	Grupo Control	50	2,3	0,5-6,7	46	(24-64)	Noruega
(447) Sallsten y Barregard	Grupo Control	39	3,2 *	0,9-8,9	36	18-61	Suecia
(246) Kingman et al, 1998	Militares	1127	1,9	----	53	(40-78)	EE.UU.
(111) de Kom et al, 1998	Grupo Control	17	5,2	----	26		Brasil

Aunque, en un principio, aparece una correlación estadísticamente significativa entre la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina y la frecuencia en el consumo de pescado, dicha relación parece ser debida a la mayor frecuencia en el consumo de pescado con la edad existente en nuestro grupo Control (N=169; r=0,251; p=0,001), puesto que la variable resultante de dividir la variable concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina por la edad deja de correlacionar significativamente con la frecuencia en el consumo de pescado (N=130; r=0,158; p=0,072), lo que no sucede con el mercurio en sangre cuya variable resultante de dividir la concentración de mercurio en sangre entre la edad sigue correlacionando con la frecuencia en el consumo de pescado (N=169; r=0,341; p<0,001). En la bibliografía consultada no aparece ninguna referencia a la correlación entre la concentración de mercurio en orina y la frecuencia en el consumo de pescado y, sin embargo sí se especifica la no correlación entre dichas variables en los trabajos de (264) (121) (16).

A pesar de que en la bibliografía aparece la correlación estadísticamente significativa entre la concentración de mercurio en orina y el número de empastes de amalgama (246) (234) (264) (134) (121) (16), hasta el punto de considerarla la principal fuente de variación en orina en personas laboralmente no expuestas (263) (264) (121) (381) (234) (526), en nuestros resultados no aparece la citada correlación. Puede que otros factores que afectan a la concentración de mercurio en orina enmascaren la influencia de los

empastes de amalgama, como parece reflejar el hecho de que, en primera instancia, la frecuencia en el consumo de pescado correlacionara de forma estadísticamente significativa con la concentración de mercurio en orina.

Al igual que en los trabajos de Barregard y colaboradores (35), en 1990, Akesson y colaboradores, en 1991, (16), Langworth y colaboradores (264), en 1991 y Langworth y colaboradores (265), en 1992, los resultados del presente trabajo no indican ninguna correlación estadísticamente significativa entre la concentración de mercurio en orina y el hábito de fumar.

La correlación de la concentración de mercurio en orina con la edad es discutida. Mientras que Jokstad y colaboradores (234) citan una menor excreción de mercurio en orina con la edad, Hongo y colaboradores (210), observan un aumento con la misma, y Gothe y Langworth (177) no observan una correlación estadísticamente significativa. En los resultados del presente trabajo no se observa una correlación estadísticamente significativa entre la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina y la edad ($N=130$; $r=0,089$; $p=0,316$) ni entre la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina sin valores extremos o “outliers” y la edad ($N=125$; $r=-0,007$; $p=0,942$).

Sólo unos pocos trabajos publican datos de concentraciones de mercurio en hombres y mujeres de forma separada (308). En los resultados del presente trabajo no se aprecia una diferencia estadísticamente significativa entre la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina de los hombres y mujeres, al igual que observan Jokstad y colaboradores (234). En la bibliografía consultada se indican concentraciones en orina diferentes por razón de género, superiores tanto en mujeres (16) (210), como en hombres (308).

II.- EXPOSICIÓN AL MERCURIO

De los resultados en el presente trabajo se desprende que de los grupos estudiados: Auxiliares de Odontología, Dentistas, Trabajadores de clorocaústicas y Personal de laboratorio, sólo se encuentran laboralmente expuestos al mercurio los grupos Dentistas y Clorocaústicas.

Numerosos estudios en personal de odontología (236) (183) (64) (462) (37) (55) (355) (216) (343) (350) (235) (351) (16) (78) (130) demuestran que dicho personal se encuentra expuesto al vapor de mercurio procedente de las amalgamas de mercurio utilizadas para el empaste de los dientes.

El menor uso de amalgamas, y el empleo de medidas de seguridad como (amalgamas encapsuladas) portaamalgamas y agitadores automáticos, ha restado importancia a este tóxico (259). Así, aquel personal que utiliza un método de preparación de amalgamas encapsulado tiene niveles de mercurio en orina inferiores a los que utilizan métodos semicerrados (16) (78). Los datos de los diferentes estudios realizados indican una progresiva reducción de la concentración de mercurio en orina del personal de las clínicas odontológicas, desde los 40 µg/L encontrados por Joselow y colaboradores en 1968 (236), pasando los 14,2 µg/L de media encontrados por Naleway y colaboradores, en un estudio realizado entre 1975 y 1983 sobre 4272 dentistas de todo EE.UU (343), hasta los 3,4 µg/g CR encontrados por Akesson y colaboradores en 1991 (16).

En cuanto a la diferencia de exposición entre los dentistas y los auxiliares, Kelman en 1978 encuentra un aumento en la concentración de mercurio urinario estadísticamente significativo entre ayudantes de odontología (38 µg/L) y dentistas (22 µg/L) (242). Por otro lado, Nixon y colaboradores en 1981 sólo encuentran pequeñas diferencias entre dentistas y sus ayudantes (355). El grupo Dentistas, en el presente trabajo, presenta una concentración de mercurio en sangre (9,6 µg/L) y orina (3,9 µg/g CR) significativamente más elevados que las encontradas en el grupo Control (7,4 µg/L en sangre y 2,0 µg/g CR en orina) o en el grupo Auxiliares de Odontología (7,1 µg/L en

sangre y 1,9 µg/g CR en orina), no existiendo diferencia estadísticamente significativa entre estos dos últimos grupos (ver Tabla II.1). Dicha diferencia no puede ser achacada a otros factores que pueden afectar a la concentración de mercurio. Así, la edad media (41,5 años en el grupo Control, 44,3 años en el grupo Auxiliares de Odontología y 37,0 años en el grupo Dentistas) es incluso inferior en los Dentistas, y no se encuentra diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia en el consumo de pescado ($\chi^2=9,422$; gl=8; p=0,308) ni en el número de empastes de amalgama ($\chi^2=6,852$; gl=8; p=0,553) entre los tres grupos.

Tabla II.1.- Índices estadísticos de las variables concentración de mercurio en sangre y concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina en los grupos Control, Dentistas y Auxiliares de Odontología.

Grupos	Mercurio en sangre			Mercurio en orina		
	Media	Desviación estándar	Mediana	Media	Desviación estándar	Mediana
Control	7,4	5,87	6,1	2,0	2,168	1,1
Dentistas	9,6	4,80	8,5	3,9	2,593	3,1
Auxiliares de Odontología	7,1	2,38	6,7	1,9	0,949	1,6

Los resultados indican una exposición al mercurio por parte de los dentistas que no puede achacarse a una contaminación de mercurio en el ambiente de las clínicas odontológicas ya que los auxiliares de las mismas no presentan diferencias estadísticamente significativas en los niveles de mercurio en sangre y orina con respecto a los del grupo Control y que procede del trabajo propio del odontólogo. En este sentido, los dentistas pueden estar momentáneamente expuestos a altas concentraciones de mercurio durante la extracción (61) (130), inserción y pulido de los empastes de amalgama (130), especialmente si no se toman las adecuadas medidas de protección (64) (425) (427) (78), como el aporte de agua y la succión (61) (130).

Tanto la reducción de los niveles de mercurio en líquidos biológicos como la no exposición al mercurio por parte de los auxiliares de odontología se explican por la utilización actual de sistemas cerrados de preparación de amalgamas.

Aunque claramente expuestos al vapor de mercurio, el grupo Dentistas presenta unos niveles de mercurio en sangre y orina por debajo de los valores límite biológicos (VLB) marcados por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (219).

Concretamente en el caso del mercurio urinario, menos afectado por el consumo de pescado y generalmente utilizado en la monitorización de exposición al vapor de mercurio, la concentración media (3,9 µg/g CR) es marcadamente inferior al VLB (35 µg/g CR), encontrándose, incluso, dentro del intervalo de referencia del grupo Control (95% de los casos) sin valores extremos o “outliers” (4,3 µg/g CR). La amplitud en el grupo Dentistas es de 0,4 a 12,6 µg/g CR, por lo que ningún resultado queda por encima del valor límite biológico. No parece, por lo tanto, que la exposición laboral actual al mercurio por parte de los odontólogos represente un peligro para la salud.

El otro grupo expuesto al mercurio, el grupo Clorocaústicas, se encuentra ampliamente estudiado como tal en la bibliografía. En la Tabla II.2 se observan las concentraciones de mercurio en sangre y orina publicadas para este grupo. Al igual que en el grupo Control, la concentración de mercurio en sangre es algo más elevada en el presente trabajo que las publicadas en la bibliografía en trabajadores de otros países, lo que era de esperar, puesto que parten de un nivel basal de mercurio más elevado. Sin embargo, concuerdan perfectamente con los encontrados en el trabajo de Mazarrasa en trabajadores de una industria clorocaústica española en 1985 (318). En orina, por a la mayor variabilidad debida, entre otras causas, a exposiciones esporádicas, los niveles de mercurio no son uniformes en la bibliografía consultada. A pesar de dicha variabilidad, en el presente trabajo se observa una menor concentración de mercurio en orina que en los valores publicados, aunque no alejados de los mismos.

Tabla II.2.- Concentraciones de mercurio en sangre y orina en trabajadores de Clorocaústicas en el presente trabajo y en la bibliografía.

Autores	Mercurio en sangre		Mercurio en orina	
	Mediana (µg/L)	Amplitud (µg/L)	Mediana (µg/g CR)	Amplitud (µg/g CR)
Presente trabajo	14	4-32	16	4-50
(318) Mazarrasa Mocwinkel, 1985	15 (1)	2-33	31 (1)	0 -121
(136) Ellingsen et al, 1997.	5	2-12	46	27-113
(35) Barregard et al, 1990	7	2-32	20	8-94
(135) Ellingsen et al, 1995 (<i>demolición sólo</i>)			8	2-18
(264) Langworth et al, 1991	11 (1)	3-60	25 (1)	1-83

(1) Media

Es de destacar, en este grupo, la menor concentración de selenio encontrada en orina. La concentración de selenio en orina en este grupo se haya disminuida con respecto al grupo Control mientras que la concentración de selenio en sangre se mantiene similar aunque tanto la concentración de selenio en orina como en sangre presentan una correlación positiva estadísticamente significativa con la concentración de mercurio en sangre, así como la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina con la concentración de selenio en orina corregida con la creatinina. Las citadas correlaciones no se observan en los individuos con concentraciones de mercurio en sangre u orina por debajo de la mediana, donde las concentraciones de selenio en orina se encuentran disminuidas. Además, la concentración de selenio en sangre es más elevada en los individuos con concentraciones de mercurio en sangre u orina por encima de la mediana que en el grupo Control.

La disminución en la excreción en orina de selenio también aparece en la mayoría de los trabajos de la bibliografía que lo estudian (211) (35) (134) (135) (136). Dicha concentración también se mantiene similar en expuestos y no expuestos en los trabajos en los que también se analiza la concentración de selenio en sangre (35) (136) o en suero (264).

Tabla II.3.- Concentraciones de selenio en sangre y orina de trabajadores laboralmente expuestos al mercurio frente a grupos no expuestos.

	Selenio en sangre (µg/L)				Selenio en orina (µg/g CR)			
	Expuestos a Hg		NO Expuestos a Hg		Expuestos a Hg		NO Expuestos a Hg	
	Mediana	Amplitud	Mediana	Amplitud	Mediana	Amplitud	Mediana	Amplitud
Presente trabajo	118	85-172	118	58-248	9	LD-43	12	LD-47
(35) Barregard et al, 1990	86 (1)	50-122	88 (1)	53-144	16	9-81	20	14-33
(264) Langworth et al, 1991	92 (1)	63-150	90 (1)	55-142				
(135) Ellingsen et al, 1995					19	7-37	27	10-90
demolición sólo								
(136) Ellingsen et al, 1997.	128	84 -179	124	84-157	22	5-101	27	16 - 81

(1) Selenio en suero o plasma

La interacción, ya comentada anteriormente, entre el selenio y el mercurio en el organismo, se ha sugerido que es debida a la formación de seleno-proteínas que reducen la toxicidad del mercurio por unión a éste (497), observándose una acumulación paralela de selenio y mercurio en riñón (32) y el resto de los tejidos (253) de trabajadores expuestos de manera crónica al mercurio. Dicha interacción podría provocar una menor

excreción urinaria del selenio al quedarse retenido en el riñón (35) y otros tejidos. La mayor concentración de selenio en orina en aquellos trabajadores expuestos al mercurio con mayores concentraciones de mercurio en sangre u orina se explicaría por una excreción conjunta de ambos elementos en los momentos de mayor exposición. Así, Barregard y colaboradores indican que la exposición al mercurio afecta de forma diferente dependiendo de si es una exposición reciente o no (35), lo que explicaría, según dichos autores, el hecho de encontrarse valores en la bibliografía donde la concentración de selenio en la orina de trabajadores expuestos al mercurio se encuentra más elevada que en el grupo Control (19).

Ellingsen y colaboradores, en 1995, con el objeto de comprobar si se mantenía la disminución en el selenio urinario en el caso de exposición moderada al mercurio, estudian los niveles de mercurio y selenio en trabajadores implicados en la demolición de una clorocaústica, observando que, incluso en exposiciones pequeñas existe disminución en la concentración de selenio en orina (135). En el presente trabajo, en el caso del grupo Dentistas, con una exposición inferior a los trabajadores referenciados más arriba como exposición moderada, se sigue manteniendo la reducción en el nivel de selenio en orina, aunque también aparece disminuida en el grupo auxiliares de odontología que no se haya expuesto. La concentración de selenio en sangre en el grupo Dentistas, al igual que sucede en el grupo Clorocaústicas, es similar a la del grupo Control.

De los resultados del presente trabajo se deduce, por lo tanto, una mayor excreción urinaria de selenio en los momentos de mayor exposición al mercurio, que conllevan una correlación entre el mercurio y el selenio urinarios, y una menor excreción de selenio en orina en los momentos de menor exposición, quizás provocada por la retención del complejo selenio-mercurio-proteína en tejidos.

III.- CADMIO

1.- SANGRE

La concentración media de cadmio en sangre en el grupo Control es de 0,5 µg/L y 1,0 µg/L, en no fumadores y fumadores, respectivamente. Dichos valores se encuentran dentro de los intervalos de referencia publicados. Así, Lauwerys (269), en 1994, y Wallach (547), en 1998, indican un valor máximo, sin diferenciación según el hábito de fumar, de 5 µg/L. Pesce y Kaplan (400), en 1990, indican unos valores de referencia diferenciados según el hábito de fumar de 0,1 a 3,5 µg/L en no fumadores y 0,3 a 6,5 en fumadores. El valor de referencia marcado por la Comisión para la Monitorización Biológica Humana de la Agencia Federal de Medioambiente de Alemania para no fumadores es 1 µg/L (389). Así mismo, como se observa en la Tabla III.1, los resultados obtenidos son similares a los observados en la bibliografía consultada.

Tabla III.1.- Concentración de cadmio en sangre en distintas publicaciones en comparación con los obtenidos en el presente trabajo. Las filas en naranja corresponden a los fumadores y las filas en azul a los no fumadores. (LD= Límite de Detección)

Referencia		N	Media de Cd en sangre (µg/L)	Amplitud (min-max) (µg/L)	País
Resultados presente trabajo	No fumadores	120	0,5	LD-1,9	España
Resultados presente trabajo	Fumadores	57	1,0	LD-5,1	España
(180) Grandjean et al, 1992	Sin distinción	200	1,1	LD-4,5	Dinamarca
(180) Grandjean et al, 1992	No fumadores	96	0,3	LD-2,7	Dinamarca
(75) Cerna et al, 1997	No fumadores	394	0,6*	0,1-15,4	R. Checa
(75) Cerna et al, 1997	Fumadores	276	1,2*	0,1-10,0	R. Checa
(565) White y Sabbioni, 1998	No Fumadores	120	0,4	0,2-0,8	Gran Bretaña
(565) White y Sabbioni, 1998	Fumadores	90	0,6	0,2-3,2	Gran Bretaña
(337) Moreno et al, 1999	No Fumadores	52	0,9	----	Badajoz. España
(337) Moreno et al, 1999	Fumadores	30	1,2	----	Badajoz. España
(514) Telisman et al, 2001	Sin distinción	154	0,8*	0,2-11,9	Croacia
(27) Barany et al, 2002	Sin distinción	343	0,3	<0,2-2,6	Suecia

* Mediana

En el presente trabajo no se ha encontrado correlación estadísticamente significativa entre el cadmio sanguíneo y las variables sexo, edad, relación peso y talla, frecuencia de consumo de pescado, eritrocitos y número de amalgama. En la bibliografía consultada

no aparece ninguna correlación entre la concentración de cadmio en sangre y las variables mencionadas con la excepción, ya mencionada, del consumo de tabaco.

2.- ORINA

La concentración media de cadmio en orina corregida con la creatinina en el grupo Control, 0,5 $\mu\text{g Cd/g CR}$, se encuentra dentro de los límites establecidos como “normales” en la bibliografía. Así, la OMS cita una concentración urinaria media en personas no expuestas variable desde 0,5 a 2,0 $\mu\text{g/L}$ (378), que generalmente es inferior a 1 $\mu\text{g/g creatinina}$ (369) (214). Para la OSHA el 95% de la población no expuesta presenta niveles de cadmio en orina inferiores a 3 $\mu\text{g/g creatinina}$ (369) y Lauwerys considera una concentración normal de cadmio en orina aquella que es inferior a 2 $\mu\text{g/g creatinina}$ (269). Además, la concentración de cadmio en orina corregida con la creatinina del presente trabajo es similar a la considerada por White y Sabbioni, en 1998, como concentración de referencia para el Reino Unido, 0,48 $\mu\text{g/g CR}$ (565), y similar a la encontrada por Cerna y colaboradores (75), en 1997, de 0,6 $\mu\text{g Cd/g CR}$.

Aunque la OSHA indica que la concentración de cadmio en orina para los fumadores es ligeramente superior que la de los no fumadores y permanece más elevada durante varios años después de haber dejado de fumar (369), los resultados obtenidos en el presente trabajo, a pesar de que reflejen una mayor concentración media en los fumadores, no presentan una diferencia estadísticamente significativa entre fumadores y no fumadores, y no permiten indicar una correlación entre el hábito de fumar y la concentración de cadmio en orina corregida con la creatinina. Tampoco encuentran diferencia estadísticamente significativa entre la excreción de cadmio en los fumadores y los no fumadores White y Sabbioni (565), en 1998, y Cerna y colaboradores, en 1997, (75).

Al igual que en el trabajo de Cerna y colaboradores (75), en 1997, en nuestros resultados no aparece correlación estadísticamente significativa entre la concentración de cadmio en orina y la variable sexo.

Tampoco se observa en el presente trabajo correlación estadísticamente significativa entre el cadmio en orina corregido con la creatinina y las variables edad, relación peso y talla, frecuencia de consumo de pescado y número de amalgamas, a pesar de que en parte de la bibliografía se indica un aumento de la concentración de cadmio urinario con la edad (369) (168).

Puesto que la concentración de cadmio en orina un indicador de la acumulación de cadmio en el organismo (369) (75), parecería lógico un aumento de la misma con la edad, principalmente en el grupo de fumadores. De esta manera, se comprueba en los resultados del presente trabajo que la correlación estadísticamente significativa entre el cadmio urinario y la edad aparece entre los fumadores del grupo Control (N=45; $r=0,367$; $p=0,013$).

IV.- COBRE

1.- SUERO

En general, se acepta que existe diferencia entre los niveles séricos entre ambos sexos (400) (278) (547), incluso excluyendo las mujeres con consumo de anticonceptivos orales (419), los cuales elevan los niveles de cobre en suero (400). Las concentraciones medias de cobre sérico en hombres y mujeres del grupo Control, 105 y 120 $\mu\text{g/dL}$, respectivamente, se encuentran dentro de los intervalos de referencia establecidos, 70 a 140 $\mu\text{g/dL}$ en hombres y 80 a 155 $\mu\text{g/dL}$ en mujeres (400) (278) (547), y casi idénticos a los resultados publicados por otros autores como se puede observar en la Tabla IV.1. Incluso los intervalos de referencia obtenidos en el presente trabajo son similares a los establecidos en la bibliografía, aunque algo más elevados en el límite superior.

Tabla IV.1.- Concentración de cobre sérico en distintas publicaciones en comparación con los obtenidos en el presente trabajo.

Referencia	Grupo	N	Media de Cu en suero ($\mu\text{g/dL}$)	Intervalo de referencia ($\mu\text{g/dL}$)	País
Resultados presente trabajo	Hombres	113	105	76-152	España
Resultados presente trabajo	Mujeres	69	120	77-171	España
(419) Rahil-Khazen et al , 2000	Hombres	69	101	66-132	Noruega
(419) Rahil-Khazen et al , 2000	Mujeres	72	114	90-181	Noruega
(180) Grandjean et al, 1992	Indistinto*	200	119	80-194	Dinamarca
(323) Menditto et al, 1993	Indistinto	1468	101	66-137	Italia
(102) Cornelis et al, 1994	Indistinto	----	95-117**	----	Bélgica
(440) Rukgauer et al, 1997	Indistinto	68	105	50-160	Alemania
(514) Telisman et al, 2001	Hombres	154	101***	88-136	Croacia
(441) Rukgauer et al, 2001	Indistinto	99	99	72-137	Alemania
(116) Díaz Romero et al, 2002	Hombres	187	102	----	Canarias. España
(116) Díaz Romero et al, 2002	Mujeres	208	118	----	Canarias. España

* Mayor concentración de cobre sérico en mujeres

** Recopilación de varias publicaciones belgas

*** Mediana

A pesar de que los empastes de amalgama contienen cantidades variables de cobre en su composición, normalmente 1-6%, aunque puede llegar hasta un 25 % (381), en los resultados del presente trabajo no existe correlación estadísticamente significativa entre

el cobre sérico y las variables frecuencia de consumo de pescado y número de empastes de amalgama. En el trabajo realizado por Grandjean y colaboradores, en 1992, tampoco aparecen correlaciones estadísticamente significativas entre el consumo de pescado o el número de empastes de amalgama y el cobre sérico (180).

En la bibliografía consultada existen resultados contradictorios en cuanto a la relación entre la edad y el cobre sérico o plasmático. Mientras algunos autores indican una correlación estadísticamente significativa con la edad (441) (323), otros no observan correlación estadísticamente significativa entre la concentración de cobre en suero y la edad en personas adultas (465) (440), ni tampoco en sangre (337), aunque sí en niños (440). En nuestros resultados sólo aparece correlación estadísticamente significativa cuando se correlaciona el cobre sérico en el grupo hombres con la edad, al igual que indican Rahil-Khazen y colaboradores, en 2000 (419).

En los resultados del presente trabajo no aparecen correlaciones estadísticamente significativas entre el cobre sérico y las variables relación peso y talla, y fumador. En la bibliografía consultada tampoco aparece esta correlación, ni en plasma (441), ni en suero (465), ni en sangre (337).

2.- ORINA

Siendo el intervalo de referencia de 0 hasta 25 $\mu\text{g}/\text{día}$ (148), menor de 30 $\mu\text{g}/\text{día}$ (400), o incluso, hasta 50 $\mu\text{g}/\text{día}$ (278), la concentración media de cobre en suero obtenida en este trabajo, 8 $\mu\text{g Cu/g CR}$, se encuentra dentro de los intervalos de referencia aceptados. El 95% de los casos del grupo Control, que se encuentran entre 3 $\mu\text{g Cu/g CR}$ y 19 $\mu\text{g Cu/g CR}$, quedarían dentro del intervalo de referencia más restrictivo.

En la Tabla IV.2 se comparan los resultados obtenidos en este trabajo con los obtenidos en otros trabajos de la bibliografía. Estos últimos son, en tres casos, algo más altos que los del presente trabajo. Sorprende que, siendo los datos expresados en microgramos por gramo de creatinina un, aproximadamente, 30% más bajos que los expresados en

microgramos al día (u orina de 24 horas), por ser la excreción de creatinina al día aproximadamente 1,3 g, los casos citados se encuentren tan cercanos al límite superior de normalidad indicado por Fauci y colaboradores en un libro de tanto reconocimiento como el “Harrison-Principios de Medicina Interna 14ª Edición” (148).

Tabla IV.2.- Concentración de cobre en orina en distintas publicaciones en comparación con los obtenidos en el presente trabajo.

Referencia	N	Media de Cu en orina ($\mu\text{g Cu/g CR}$)	Intervalo de referencia ($\mu\text{g Cu/g CR}$)	Amplitud (min-max) ($\mu\text{g Cu/g CR}$)	País
Resultados presente trabajo	138	8	3-19	1-41	España. Madrid
(544) Vivoli et al, 1987	63	9	----	----	Italia
(397) Peretz et al, 1989	28	20	----	6-50	Bélgica
(465) Schuhmacher et al, 1994	434	27*	----	----	España. Tarragona
(430) Rodríguez y Díaz, 1995	97	23	----	6-74	España. Tenerife
(447) Sallsten y Barregard, 1997	39	8**	----	2-15	Suecia
(565) White y Sabbioni, 1998	103	12 $\mu\text{g/L}$	5-29	----	Gran Bretaña

* Media Geométrica

** Mediana

Aunque Folch y colaboradores (157), en 1998, indican una correlación estadísticamente significativa del cobre urinario con la edad, en el presente trabajo no aparece la misma ni en hombres, ni en mujeres, ni en ambos grupos. De igual manera, Schuhmacher y colaboradores, 1994 no encuentran dicha correlación aunque sí cierta tendencia a aumentar con la edad (465).

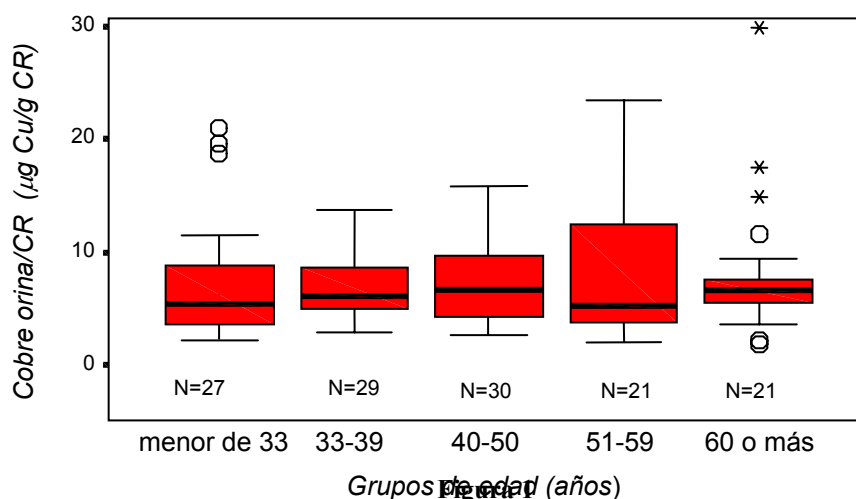


Figura IV.1.- Diagramas de cajas que representan la concentración de cobre en orina corregida con la creatinina en cinco grupos de edad del grupo

En la figura IV.1 se distribuye el grupo Control en cinco grupos de edad para poder, gráficamente, poder observar la influencia de la edad en la concentración de cobre en orina. Claramente se ve que ningún grupo destaca sobre los demás y, lo que es más importante, no existe tendencia de ningún tipo.

Lo mismo que con la edad algunos autores indican una diferencia estadísticamente significativa entre ambos sexos (465) (157). Al igual que en los resultados de este trabajo, Rodríguez y Díaz (430), en 1995, no encuentran diferencia estadísticamente significativa en la concentración de cobre en orina entre hombres y mujeres.

El cobre urinario no se ve afectado por el hábito de fumar (465), no apareciendo en los resultados del presente trabajo diferencia estadísticamente significativa entre fumadores y no fumadores, como tampoco aparece correlación estadísticamente significativa entre el cobre urinario en el grupo Control y las variables frecuencia en el consumo de pescado, el número de empastes de amalgama y la relación peso y talla.

Sí se observa una pequeña correlación positiva, estadísticamente significativa, entre la concentración de cobre sérica y la concentración de cobre en orina corregida con la creatinina ($N=138$; $R=0,240$; $p=0,005$) aunque con un coeficiente de determinación muy bajo ($0,061$) en un modelo de regresión lineal.

V.- PLOMO

1.- SANGRE

La media aritmética de plomo sanguíneo en el presente trabajo es de 4,7 µg/dL, existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre personas adultas de distinto género. La concentración media de plomo en sangre en hombres del grupo Control es 5,3 µg/dL (N=113; SD=3,243) y el de mujeres 3,7 µg/dL (N=69; SD=2,810), valores que coinciden con los encontrados en la bibliografía consultada como se puede observar en la Tabla V.1. La mayoría de los adultos sin exposición profesional tienen valores de plomo en sangre inferiores a 10 µg/dL (547), en cualquier caso, los valores encontrados se encuentran dentro del intervalo considerado como “normal”, de 20 µg/dL (271) (148) (547).

La diferencia de plumbemia en hombres y mujeres, aunque no indicada expresamente por todos los autores al indicar los límites de referencia, se encuentra ampliamente aceptada, habiendo sido observada por numerosos autores (255) (75) (175) (337) (329). La diferencia existente entre hombres y mujeres debería obligar a marcar límites de referencia diferentes entre ellos (255). Así, la Comisión para la Monitorización Biológica Humana de la Agencia Federal de Medioambiente de Alemania, indica unos valores de referencia de 12 µg/dL para hombres y 9 µg/dL para mujeres (389).

La concentración de plomo en sangre ha disminuido debido a la reducción en los niveles de plomo en gasolinas, pinturas y latas para las bebidas (404), hecho que se comprueba al comparar las medias observadas por Ducoffre y colaboradores en 1978 en Bélgica (102), 17 µg/dL en hombres y 7,8 µg/dL en mujeres, y Bach en 1979 en Dinamarca (408), 13,6 µg/dL en hombres y 8 µg/dL en mujeres, con los datos más recientes indicados en la Tabla V.1.

Tabla V.1.- Concentración de plomo en sangre en distintas publicaciones en comparación con los obtenidos en el presente trabajo.

Referencia		N	Media de Pb en sangre (µg/dL)	Amplitud (min-max) (µg/dL)	País
Resultados presente trabajo	Hombres	113	5,3	1,2-19	España
Resultados presente trabajo	Mujeres	69	3,7	0,4-16	España
(180) Grandjean et al, 1992	Sin distinción	240	5,0	----	Dinamarca
(255) Kristiansen et al, 1997	Hombres	90	5,6	2,1-12,0	Dinamarca
(255) Kristiansen et al, 1997	Mujeres	99	4,2	<1,4-10,4	Dinamarca
(565) White y Sabbioni, 1998	Indistinto	214	3,9	----	Gran Bretaña
(75) Cerna et al, 1997	Hombres	515	5,2*	0,4-35,8	R. Checa
(75) Cerna et al, 1997	Mujeres	153	4,0*	0,3-15,9	R. Checa
(337) Moreno et al, 1999	Hombres	46	5,6	----	Badajoz. España
(337) Moreno et al, 1999	Mujeres	36	3,5	----	Badajoz. España
(175) G-Revaldería et al, 2000	Hombres	41	3,9	----	España
(175) G-Revaldería et al, 2000	Mujeres	52	2,3	----	España
(514) Telisman et al, 2001	Hombres	154	5,7*	2,5-25,4	Croacia
(27) Barany et al, 2002	Sin distinción	314	1,9	0,4-17	Suecia

* Mediana

Al no correlacionar en el presente trabajo la concentración de plomo en sangre con el número de eritrocitos, dato que concuerda con la tampoco correlación con el hematocrito (514), no parece necesario expresar los resultados por volumen de hematíes, en lugar de hacerlo por volumen total de sangre, como recomienda Lauwerys (271), en 1994. Además, la diferencia de plomo sanguíneo por razón de género, que podría ser atribuida a la diferencia en el número de eritrocitos en ambos grupos (337), no desaparece al referir la concentración de plomo en sangre al número de eritrocitos, como se observa en los resultados del presente trabajo.

La concentración de plomo en sangre aparece en la bibliografía consultada correlacionada con la edad (175) (168) (337) (514). Sin embargo, en los resultados del presente trabajo, en un grupo de adultos, no se observa una correlación estadísticamente significativa entre las mismas, como también indican Kristiansen y colaboradores, en 1997 (255). Milman y colaboradores, en 1990, observan que los valores de plomo en sangre en los hombres son independientes de la edad mientras que aumentan con la edad en las mujeres (329). Debido a la mayor susceptibilidad de los niños a la toxicidad del plomo, exposiciones a bajas concentraciones de plomo en niños menores de 5 años provocan alteraciones en el desarrollo intelectual del niños con disminución en el coeficiente de inteligencia (214), los límites de plomo en sangre son inferiores para los niños (389).

No existe correlación estadísticamente significativa entre el plomo sanguíneo y las variables relación peso y talla, frecuencia de consumo de pescado y número de empastes de amalgama. En la bibliografía consultada no aparece ninguna correlación entre la concentración de plomo en sangre y las variables mencionadas. En el trabajo realizado por Grandjean y colaboradores, en 1992, tampoco aparecen correlaciones estadísticamente significativas entre el consumo de pescado o el número de empastes de amalgama y el plomo sanguíneo (180).

Hay una controversia en la bibliografía sobre los efectos del hábito de fumar sobre la concentración de plomo en sangre (466). Mientras algunos autores observan una mayor concentración de plomo en sangre en fumadores (57) (414) (466) (75), otros autores indican ausencia de efecto del hábito de fumar sobre la plumbemia (255) (514). Los valores más elevados de plomo en sangre en los fumadores pueden deberse a la relación existente entre el consumo de alcohol y el hábito de fumar, siendo pequeña la contribución del tabaco a los niveles de plomo en sangre en los fumadores que no consumen bebidas alcohólicas (181).

2.- ORINA

La concentración de plomo en orina es un índice poco fiable ya que sufre grandes fluctuaciones al cesar la exposición y está influido, entre otros factores, por el estado de la función renal (313), existiendo una baja asociación con la plumbemia por lo que no se utiliza en la práctica para apreciar el riesgo de exposición excesiva al plomo (271). Por lo tanto, no es frecuente encontrar trabajos de plomo urinario en la bibliografía. Los resultados del presente trabajo indican, sin embargo, una apreciable correlación entre la concentración de plomo en sangre y la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina ($N=140$; $r=0,461$; $p<0,001$).

En los resultados del presente trabajo, no aparece correlación estadísticamente significativa entre el plomo urinario corregido con la creatinina en el grupo Control y las variables fumador, relación peso y talla y el sexo. De esta manera, no se hace distinción entre hombres y mujeres como en el caso del plomo en sangre. La media aritmética de la concentración de plomo en orina corregida con la creatinina en el grupo Control fue de 4,8 µg Pb/g CR, muy por debajo del límite marcado por Lauwerys (271) como límite superior de “normalidad” de 50 µg Pb/g de creatinina. La concentración de plomo en orina corregida con la creatinina del presente trabajo es inferior a la considerada por White y Sabbioni, en 1998, como concentración de referencia para el Reino Unido, 12,1 µg Pb/g CR (565).

Tabla V.2.- *Concentración de plomo en orina en distintas publicaciones en comparación con los obtenidos en el presente trabajo.*

Referencia	N	Media de Pb en orina (µg Pb/g CR)	Amplitud (min-max) (µg Pb/g CR)	País
Resultados presente trabajo	140	4,8		España
(348) Neve y Vertongen, 1988	6	7,5	----	Bélgica
(565) White y Sabbioni, 1998	198	12,1	0,9-55	Gran Bretaña

Sí que existe una correlación positiva estadísticamente significativa entre el plomo urinario y la edad (N=130; R=0,366; p<0,001) en los resultados del presente trabajo, aunque dicho efecto se hace manifiesto a partir de 50 años de edad, lo que parece indicar una progresiva acumulación del plomo en el cuerpo humano.

VI.- SELENIO

1.- SANGRE

La actual monitorización clínica se centra en cambios de la ingesta a corto plazo y la mayor parte de las muestras son de plasma o suero, en parte como consecuencia de que el análisis de sangre total y eritrocitos es técnicamente más difícil (471). Sin embargo, el selenio eritrocitario presenta buenas correlaciones con las concentraciones plasmáticas y es un buen índice para conocer el estatus de selenio a largo plazo, debido a la larga vida del hematíe, 120 días (543). Aunque la Glutathion Peroxidasa (GPx) es la única forma metabólicamente funcional del Se, y parece aportar una información más adecuada del status nutricional que la medición del contenido total del mismo (513), la actividad de la GPx y el selenio plasmático se encuentran correlacionadas cuando las concentraciones de selenio no son elevadas y saturan los sitios de la glutathion peroxidasa (421). De esta manera, el selenio sérico constituye un indicador útil en los países europeos donde las concentraciones de selenio no saturan la actividad de la GPx (421). En cualquier caso, la interpretación de los resultados debería basarse en intervalos de referencia de la misma localidad y se deberían tener en cuenta los valores pediátricos (471).

La concentración media de selenio en sangre encontrada en el grupo Control del presente trabajo es 118 µg/L, encontrándose el 95% de los casos del grupo Control entre 80 y 164 µg/L. Estas cifras son similares, aunque algo superiores a las indicadas por Alegría y colaboradores (18), en Valencia en 1996, cuya concentración media era 93 µg/L con un intervalo de referencia entre 67 y 119 µg/L. Sin embargo, la concentración media de selenio en sangre encontrada en Badajoz en 1999 por Moreno y colaboradores (337) es idéntica a la del presente trabajo. En la Tabla VI.1 se comparan los resultados obtenidos en España y otros países europeos.

Tabla VI.1.- Concentraciones medias de selenio en sangre y los intervalos de referencia en distintos países europeos

País y referencia	Concentración de selenio en sangre	
	Media (µg/L)	Intervalo de referencia
Finlandia, Helsinki, (385) OMS, 1987	81	----
Suecia, (385) OMS, 1987	120	----
Reino Unido, (565) White y Sabbioni, 1998	102	(62-142)
República Checa, (75) Cerna et al, 1997	53	----
Suecia, (27) Barany et al, 2002	110	(65-160)
Dinamarca, (180) Grandjean et al, 1992	103	(81-134)
Bélgica, (537) Verlinden et al, 1983	123	(82-178)
España, Valencia, (18) Alegría et al, 1996	93	(67-119)
España, Badajoz, (337) Moreno et al, 1999	118	----

En los resultados del presente trabajo se aprecia una correlación estadísticamente significativa entre el consumo de pescado y la concentración de selenio en sangre ($N=179$; $r=0,191$; $p=0,011$). De hecho los productos de origen animal ricos en proteínas (carnes y pescados), suelen ser buenas fuentes de Se en forma de seleno-aminoácidos (513). Varios autores encuentran también esta correlación (264) (192), aunque para Grandjean y colaboradores se observa dicha correlación en el selenio sanguíneo y no en el sérico (180). Akesson y colaboradores, en 1991, indican un incremento del 2,2% en la concentración del selenio plasmático con el consumo de pescado (16). Para Hagmar y colaboradores, en 1998, la correlación entre el consumo de pescado (veces/mes) y la concentración de selenio en plasma tiene un coeficiente de Pearson bastante más alto que el obtenido en el presente trabajo ($N=68$ $r=0,63$ $p<0001$) (192). Sin embargo, Grandjean y colaboradores (180) y Ellingsen y colaboradores (134), no encuentran correlación con el consumo de pescado.

También aparece una correlación negativa estadísticamente significativa con la variable fumador ($N=177$; $R=-0,212$; $p=0,005$). Existe una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de selenio en sangre de los no fumadores y los fumadores del grupo Control al realizar una prueba T, de comparación de medias de Student-Fisher, siendo la concentración media de selenio en sangre en los no fumadores superior (122 µg/L) a la de los fumadores (110 µg/L). Dicha diferencia es observada también por numerosos autores de la bibliografía consultada (180) (134) (408) (75) (337) (514). Además, Moreno y colaboradores (337), en 1999, obtienen unos valores en fumadores y no fumadores de Badajoz, 111µg/L y 128 µg/L, respectivamente, casi

idénticos a los obtenidos en el presente trabajo. Una explicación a la disminución de la concentración de selenio en sangre con el hábito de fumar es el hecho de que el selenio actúa como factor antioxidante (513) (421), además de interaccionar en el organismo con una serie de metales tóxicos (As, Cd, Hg, Cu, Ag, Pb, etc.), impidiendo el daño de éstos en diferentes tejidos (513).

El mencionado efecto puede reducir la biodisponibilidad del selenio (421), principalmente en el caso del cadmio que se encuentra correlacionado con el hábito de fumar, dado el antagonismo cadmio-selenio (380). Sin embargo, debe hacerse mención de que White y Sabbioni no encuentran correlación entre el selenio y el hábito de fumar (565). Para Ellingsen y colaboradores, la relación entre el tabaco y el selenio sanguíneo se debe a la relación negativa existente entre el cadmio y selenio sanguíneos y la concentración de cadmio en las hojas de tabaco (136).

En los resultados del presente trabajo, no se observa correlación estadísticamente significativa entre la concentración de selenio en sangre en el grupo control y la variable sexo al igual que Cerna y colaboradores (75), en 1997, White y Sabbioni (565), en 1998, Navarro Alarcón y colaboradores (en suero) (344), en 1999, Sabé y colaboradores (442), en 2000, y Rukgauer y colaboradores (441), en 2001.

Al igual que Grandjean y colaboradores (180), en 1992, Navarro Alarcón y colaboradores (en suero) (344), en 1999, Moreno y colaboradores (337), en 1999, y Telisman y colaboradores (514), en 2001, no se observa en el presente trabajo correlación estadísticamente significativa con la edad.

El número de eritrocitos, como también indican Telisman y colaboradores (514), y la relación entre el peso y la talla tampoco parecen tener una relación con la concentración de selenio en sangre. Con respecto a esta última variable, Rukgauer y colaboradores, en 2001, tampoco encuentran una correlación estadísticamente significativa con el selenio plasmático (441).

Akesson y colaboradores, en 1991, observan una correlación estadísticamente significativa entre la concentración de mercurio en sangre y la concentración de selenio

en plasma ($r=0,2$ $p=0,001$) (16). La misma correlación con incluso similar coeficiente de correlación de Pearson aparece en los resultados del presente trabajo ($N=186$; $R=0,238$; $p=0,006$).

2.- ORINA

La concentración media de selenio en orina corregida con la creatinina en el grupo Control es 14 $\mu\text{g Se/g CR}$, con un 95% del grupo Control entre 0 y 36 $\mu\text{g Se/g CR}$. Los citados valores son similares a los encontrados en la bibliografía, como se puede observar en la Tabla VI.2, principalmente a los realizados sobre una mayor población y sobre los que se refleja intervalo de referencia como son los indicados, en 1998, por White y Sabbioni como valores de referencia en Gran Bretaña (565). Para Lauwerys, una concentración normal de selenio en orina debe estar por debajo de 25 $\mu\text{g/g}$ de creatinina (269) aunque según Sanz Alaejos y Díaz Romero, en 1994, la concentración de selenio en orina de personas sin deficiencia de selenio ni problemas de toxicidad varía entre 20 y 200 $\mu\text{g/día}$ (454).

Tabla VI.2.- Concentración de selenio en orina en distintas publicaciones en comparación con los obtenidos en el presente trabajo.

Referencia	N	Media de Se en orina ($\mu\text{g Se/g CR}$)	Intervalo de referencia ($\mu\text{g Se/g CR}$)	Amplitud (min-max) ($\mu\text{g Se/g CR}$)	País
Resultados presente trabajo	133	14	0-36		España. Madrid
(346) Neve et al, 1988	6	15	----	----	Bélgica
(35) Barregard et al, 1990	39	20	----	----	Suecia
(135) Ellingsen et al, 1995	21	27	----	10-62	Noruega
(565) White y Sabbioni, 1998	181	18	9-38	7-56	Gran Bretaña
(344) Navarro-Alarcón et al, 1999	95	20 $\mu\text{g/L}$	----	5-50 $\mu\text{g/L}$	España. Granada

La concentración de selenio en orina corregida con la creatinina, no se encuentra correlacionada estadísticamente, al contrario que la concentración de selenio en sangre, con la frecuencia en el consumo de pescado ($N=133$; $R=0,170$; $p=0,053$). Al igual que se observa en la bibliografía consultada (35) (344) (565), en los resultados del presente trabajo no aparece una diferencia estadísticamente significativa en la excreción de

selenio por razón de género. Lo mismo sucede con las variables edad y fumador (565) (35).

Como se indicó anteriormente, existe una correlación estadísticamente significativa entre la concentración de selenio en sangre y la concentración de selenio en orina corregida con la creatinina ($N=186$; $r=0,244$; $p=0,005$). La misma correlación es observada por Ellingsen y colaboradores (134) ($N=50$; $r=0,28$; $p<0,05$).

VII.- ZINC

1.- SUERO

Como se observa en los resultados del presente trabajo, la diferencia estadísticamente significativa de zinc sérico entre ambos sexos se debe al diferente número de eritrocitos entre ellos dado que al referir la variable concentración de zinc en suero al número de eritrocitos la variable resultante deja de ser diferente en ambos sexos. Además, al aplicar un modelo de regresión lineal en pasos sucesivos la variable predictora sexo queda excluida. De hecho, los intervalos de referencia publicados no hacen distinción por razón de género, variando desde 50 a 75 µg/dL hasta 115 a 150 µg/dL (148) (547) (278) (400). Por lo tanto, los resultados de zinc sérico obtenidos en el presente trabajo son algo elevados aunque la concentración media de zinc en suero se encuentra dentro de los intervalos de referencia citados. Si se comparan con los encontrados en otros trabajos publicados, ver Tabla VII.1, observamos que, aunque se encuentran algo elevados, concuerdan perfectamente con los obtenidos por Schumacher y colaboradores en Tarragona en 1994 (465) y son casi idénticos a los encontrados por Díaz Romero y colaboradores en las Islas Canarias en 2002 (116).

La clara correlación encontrada en el presente trabajo con el número de eritrocitos también aparece reflejada en la bibliografía, en cierta medida, al indicar Telisman y colaboradores, en 2001, una correlación estadísticamente significativa con el hematocrito (514) que no observan con otros elementos que, como el zinc, tienen una concentración en los eritrocitos muy superior a la plasmática, como el plomo, cadmio y el selenio.

Tabla VII.1.- Concentración de zinc sérico en distintas publicaciones en comparación con los obtenidos en el presente trabajo.

Referencia	N	Media de Zn en suero (µg/dL)	Intervalo de referencia (µg/dL)	Amplitud (min-max) (µg/dL)	País
------------	---	------------------------------------	---------------------------------------	----------------------------------	------

Resultados presente trabajo	Indistinto	186	117	89-155		España. Madrid
Resultados presente trabajo	Hombres	111	121	90-156		España. Madrid
Resultados presente trabajo	Mujeres	69	111	85-151		España. Madrid
(323) Menditto et al, 1993	Indistinto	1468	89	58-121	----	Italia
(465) Schuhmacher et al, 1994	Indistinto	434	114**	----	----	España. Tarragona
(465) Schuhmacher et al, 1994	Hombres	196	106**	----	----	España. Tarragona
(465) Schuhmacher et al, 1994	Mujeres	175	123**	----	----	España. Tarragona
663] Rukgauer et al, 1997	Indistinto	68	109	68-149	61-151	Alemania
(514) Telisman et al, 2001	Hombres	154*	96*	80-117	73-121	Bélgica
(441) Rukgauer et al, 2001	Indistinto	99	82	64-103	----	Alemania
(116) Díaz Romero et al, 2002	Indistinto	395	116	----	46-365	España. Canarias

* Mediana

** Media geométrica

Al igual que Rukgauer y colaboradores (441), en 2001, Schuhmacher y colaboradores (465), en 1994, y Díaz Romero y colaboradores (116), en 2002, en el presente trabajo no aparece correlación estadísticamente significativa entre la concentración de zinc en suero y la edad. Sin embargo, otros autores encuentran una correlación negativa estadísticamente significativa con la edad (180) (323) (419), que puede ser debida a un menor número de eritrocitos con la edad como se aprecia en la Tabla VII.2.

Tabla VII.2.- Correlación de Pearson entre el número de eritrocitos y la edad en hombres y mujeres en el grupo Control.

Variable:	Edad	Edad (hombres)	Edad (mujeres)
Número de Eritrocitos			
Correlación de Pearson	- 0,226**	- 0,343**	0,129
Significación	0,008	0,001	0,378
Número de casos	138	89	49

** La correlación es significativa al 99%

El hábito de fumar no parece tener influencia en la concentración de zinc en suero. Tanto en los resultados del presente trabajo como otros autores en la bibliografía (441) (323) (419) no encuentran diferencia estadísticamente significativa entre el zinc sérico de fumadores y no fumadores. Como tampoco parece tener efecto la relación peso talla o el índice de masa corporal (441).

2.- ORINA

Aunque en personas vegetarianas la excreción de zinc en orina es la mitad que en las que llevan una dieta rica en carne (430), la concentración de zinc en orina sólo se ve fuertemente alterada por la ingesta de zinc si ésta es muy baja o muy elevada (244), puesto que la principal vía de eliminación del zinc es la fecal (332) previa secreción pancreática (244). El ejercicio aumenta de forma significativa la excreción urinaria de zinc (430).

La concentración media de zinc en orina corregida con la creatinina obtenida en el presente trabajo en el grupo Control (746 $\mu\text{g/g}$ CR en hombres y 542 $\mu\text{g/g}$ CR en mujeres) concuerda perfectamente con el indicado por Lauwerys como valor normal de zinc en orina corregido con creatinina, 700 $\mu\text{g/g}$ creatinina (269), y dentro de los intervalos de referencia indicados por Lehmann y Henry (150-1200 $\mu\text{g/día}$) (278) y por Wallach (150-1000 $\mu\text{g/día}$) (547). En ninguno de los intervalos de referencia encontrados se hace distinción entre hombres y mujeres, diferencia que resulta ser estadísticamente significativa en el presente trabajo y que también indican Schumacher y colaboradores (465) y Folch y colaboradores (157) (ver Tabla VII.3).

Tabla VII.3.- Concentración de zinc en orina en distintas publicaciones en comparación con los obtenidos en el presente trabajo.

Referencia		N	Media de Cu en orina ($\mu\text{g Zn/g CR}$)	Intervalo de referencia ($\mu\text{g Zn/g CR}$)	Amplitud (min-max) ($\mu\text{g Zn/g CR}$)	País
Resultados presente trabajo	Indistinto	137	679	256-1753	165-2426	España. Madrid
Resultados presente trabajo	Hombres	93	746	276-1974	200-2426	España. Madrid
Resultados presente trabajo	Mujeres	44	542	193-1018	165-1823	España. Madrid
(348) Neve et al, 1988	Indistinto	6	487	----	----	Bélgica
(397) Peretz et al, 1989	Indistinto	28	608	----	183-1699	Bélgica
(552) Watanabe et al, 1990	Indistinto	1472	230 $\mu\text{g/L}$	----	----	Japón
(465) Schuhmacher et al, 1994	Hombres	241	782*	----	----	España. Tarragona
(465) Schuhmacher et al, 1994	Mujeres	177	599*	----	----	España. Tarragona
(430) Rodríguez y Díaz, 1995	Indistinto	97	465	----	13-2546	España. Tenerife
(447) Sallsten y Barregard, 1997	Hombres	39	439***	----	144-751	Suecia
(157) Folch et al, 1998	Hombres	341	780	513-1177**	----	España. Tarragona
(157) Folch et al, 1998	Mujeres	284	730	414-1269**	----	España. Tarragona

* Media geométrica

** Intervalo al 50%

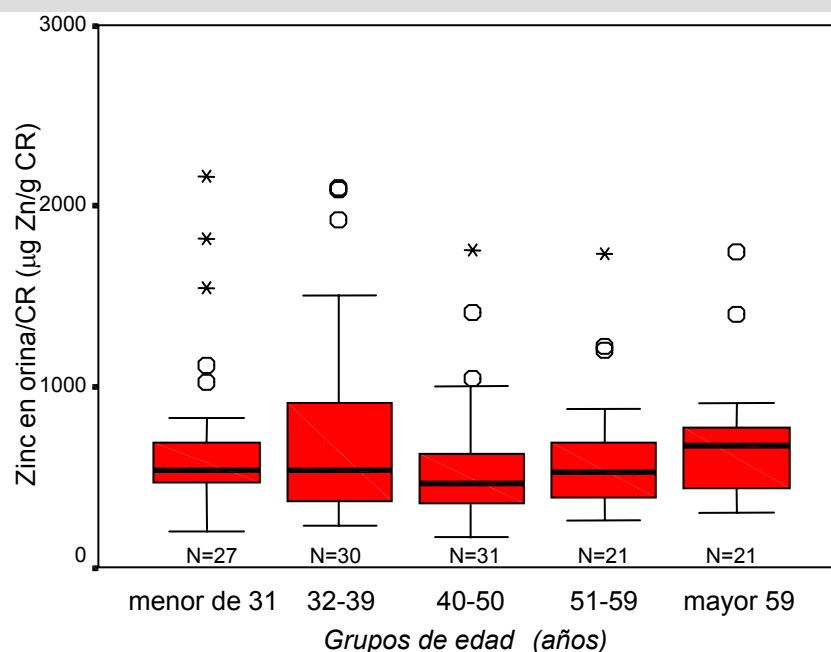
*** Mediana

En el presente trabajo no existe correlación estadísticamente significativa entre el zinc urinario corregido con la creatinina en el grupo Control y las variables edad, la relación peso y talla, la frecuencia en el consumo de pescado y el número de empastes de amalgama. Las dos únicas correlaciones estadísticamente significativas que aparecen son con las variables sexo ($N=137$; $R=-0,210$; $p=0,014$) y con la concentración de zinc sérico ($N=140$; $R=0,404$; $p<0,001$).

La concentración de zinc en orina no se encuentra afectada en el presente trabajo por el hábito de fumar, al igual que en los trabajos de Watanabe y colaboradores (552), en 1990, Schuhmacher y colaboradores (465), en 1994, y Rodríguez y Díaz (430), en 1995.

En la figura VII.1 se comprueba más fácilmente que la edad no afecta a la excreción urinaria de zinc, de hecho no existe correlación estadísticamente significativa entre ellas. Schuhmacher y colaboradores tampoco encuentran correlación aunque sí cierta tendencia a disminuir con la edad (465). Sin embargo Folch y colaboradores sí encuentran una correlación estadísticamente significativa con la edad (157).

Figura VII.1.- Diagrama de cajas que representa las distribuciones de distintos grupos de edad de la variable concentración de zinc en orina corregida con la creatinina.



Rodríguez y Díaz (430), en 1995, y Schuhmacher y colaboradores (465), en 1994, observan una diferencia estadísticamente significativa entre ambos sexos. Dicha diferencia aparece también en los resultados del presente trabajo, sin embargo, al excluir los valores que se alejen más de 1,5 veces la amplitud intercuartil del percentil 75, denominados extremos o “outliers”, desaparece la diferencia estadísticamente significativa, no existiendo la diferencia en el grueso de los resultados.

VIII.- RELACIONES ENTRE ELEMENTOS TRAZA

1.- CADMIO Y SELENIO EN SANGRE

La correlación negativa estadísticamente significativa entre el cadmio y el selenio sanguíneos que aparece en el presente trabajo también aparece en el trabajo de Ewers y colaboradores, en 1999, en una población de niños de 4 a 14 años expuestos al plomo, con un coeficiente de correlación de Pearson similar ($N=157$; $r=-0,18$; $p=0,023$) (389), o en el trabajo de Telisman y colaboradores, en 2001, que utilizando una correlación de Spearman, también obtiene un valor del estadístico de correlación parecido ($N=154$; $\rho=-0,189$; $p<0,02$ $p>0,01$) (514). Además, Ellingsen y colaboradores, en 1997, en una población, al igual que la del presente trabajo, con 77 trabajadores expuestos a vapor de mercurio y 53 trabajadores no expuestos, también encuentran la citada correlación negativa con, un coeficiente de correlación de Pearson bastante considerable ($r=-0,43$; $p<0,001$) (136).

La interacción del selenio con el cadmio se encuentra frecuentemente descrita en la bibliografía (513) (380) (421) por lo que no debería extrañar la correlación antes mencionada. Incluso, en el trabajo de Rahil-Khazen y colaboradores, en 2002, aparecen concentraciones inversas en la concentración de selenio y cadmio en los riñones y el cerebelo procedentes de 30 autopsias (418), lo que concordaría con los resultados encontrados. Sin embargo, puesto que tanto la concentración de selenio en sangre como la concentración de cadmio en sangre se encuentran disminuidas en fumadores, podría pensarse en que alguna de ellas sea una correlación espúrea. De hecho, la concentración de selenio en sangre no correlaciona con la concentración de cadmio en sangre en no fumadores ni en fumadores, como se puede observar en la Tabla VIII.1. No obstante, en el trabajo de Ellingsen y colaboradores sí que correlacionan en todos los grupos, aunque ya indican que el consumo de tabaco puede conducir a malas interpretaciones en la relación cadmio y selenio sanguíneos (136).

Tabla VIII.1.- Correlaciones lineales entre las variables concentración de selenio en sangre y concentración de cadmio en sangre en fumadores y no fumadores. En el grupo Control se realiza la correlación de Pearson entre el logaritmo del cadmio sanguíneo sin valores extremos de fumadores y no fumadores con la concentración de selenio en sangre sin valores extremos. Para el conjunto de todos los grupos se aplica una correlación de Spearman entre las variables sin transformar.

	Se sangre	Fumadores	NO fumadores	Todos
	Correlación de Pearson (Grupo Control)	-0,056	-0,305 **	-0,239 **
Log Cd-sangre	Significación	0,689	0,001	0,002
	Número de casos	54	107	179
	Correlación Spearman (Todos los grupos)	-0,005	-0,118	-0,143 **
Cd-sangre	Significación	0,961	0,106	0,015
	Número de casos	85	189	285

* Significación al 95%

** Significación al 99%

En cualquier caso, la interacción entre el cadmio y el selenio debería tener un mecanismo diferente que el relacionado con el selenio y el mercurio, puesto que la correlación del selenio con este último es positiva en vez de negativa.

2.- SELENIO Y MERCURIO EN SANGRE

En el presente trabajo existe una correlación estadísticamente significativa positiva entre la concentración de mercurio en sangre y la concentración de selenio en sangre ($\rho=0,416$; $p<0,001$; $N=283$). En la bibliografía consultada existen trabajos en los que se indica el mismo tipo de correlación (389) (16) (180), aunque con coeficientes de correlación más pequeños: ($N=157$; $r=0,24$; $p=0,002$) (389), ($r=0,2$; $p=0,001$) (16) y ($N=200$; $r=0,22$; $p<0,005$) (180); junto con otros trabajos en los que no es significativa (35) (264) (136). Puede pensarse que la citada correlación se encuentre influenciada por la común relación de ambas variables con la frecuencia en el consumo de pescado. No obstante, como se observa en los resultados, al realizar una regresión lineal múltiple en pasos sucesivos en la que la concentración de mercurio en sangre es la variable dependiente y en la que se incluyen el selenio sanguíneo y el consumo de pescado junto

con otras variables independientes, no quedan excluidas ninguna de las dos variables por lo que ninguna de ellas anula la relación de la otra con el mercurio sanguíneo.

Tabla VIII.2.- Resumen del modelo de regresión lineal en pasos sucesivos. Variable dependiente: Mercurio sanguíneo. Variables predictoras: Consumo de pescado a la semana, Selenio en sangre, Edad.

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	F	ANOVA p
0,572	0,327	0,314	26,225	Menor de 0,001**

** Estadísticamente significativo al 99,9%

Por otra parte, la interacción entre el selenio y el mercurio en el organismo es frecuentemente citada en la bibliografía. De hecho se considera que el selenio ejerce un efecto protector en la toxicidad provocada por el mercurio (407) (147) (513) (380) (497) (284) (407) (179) (270) (161) (505) (79), que aunque por un mecanismo de acción desconocido (385), se ha sugerido que el efecto protector del ión selenio es debido a la formación de seleno-proteínas que reducen la toxicidad del mercurio por unión a éste (497). Así, la acción protectora del ión selenio no implica un aumento en la excreción de mercurio, sino que origina una alteración en su distribución con incremento de la concentración de mercurio en el cerebro (497) (169), observándose una acumulación paralela de selenio y mercurio en riñón (32) y el resto de los tejidos (253) de trabajadores expuestos de manera crónica al mercurio (inorgánico u orgánico).

Los resultados obtenidos, serían perfectamente compatibles con la hipótesis de un complejo selenoproteínas con mercurio que provoca un incremento paralelo de ambos elementos.

3.- COBRE EN SUERO Y SELENIO EN SANGRE

El selenio también puede interaccionar en el organismo con el cobre (513) (380) reduciendo la concentración de selenio en sangre (421). Así, aparece una correlación negativa estadísticamente significativa entre la concentración de cobre en suero y la concentración de selenio en sangre, tanto en el grupo Control como en el conjunto de

los grupos. Sin embargo, no aparece por separado en los hombres y mujeres, como se puede observar en la Tabla VIII.3. No es, por lo tanto, una correlación muy marcada y, de hecho, no aparece en los pocos artículos de la bibliografía que correlacionan ambas variables (514) (389).

Tabla VIII.1.- *Correlaciones lineales entre las variables concentración de selenio en sangre y la cus en hombres y mujeres. En el grupo Control la correlación de Pearson se realiza sin valores extremos o "outliers". Para el conjunto de todos los grupos se aplica una correlación de Spearman entre las variables sin transformar.*

Se sangre		Cobre suero Hombres	Cobre suero Mujeres	Cobre suero Todos
Selenio sangre	Correlación de Pearson (Grupo Control, sin "outliers")	-0,184	-0,248	-0,221 **
	Significación	0,069	0,052	0,004
	Número de casos	98	62	171
Selenio sangre	Correlación Spearman (Todos los grupos)	-0,148	-0,167	-0,125 *
	Significación	0,057	0,093	0,039
	Número de casos	166	103	275

* Significación al 95%

** Significación al 99%

4.- CADMIO Y PLOMO EN SANGRE.

Las correlaciones entre varios elementos traza en sangre están probablemente relacionadas con el hecho de que están influenciados por el mismo factor, principalmente el hábito de fumar, y quizás, el consumo de alcohol (180). Existen también exposiciones simultáneas a varios elementos, como es el caso del cadmio y el plomo, razón esgrimida por Ellingsen y colaboradores, en 1997, y por Grandjean y colaboradores, en 1997, para explicar la correlación estadísticamente significativa que ellos observan entre el logaritmo de la concentración de plomo en sangre y el logaritmo de la concentración de cadmio en sangre (N=130; $r=0,23$; $p<0,01$), los primeros (136) y entre las concentraciones de ambos elementos en sangre (N=200; $r=0,26$; $p<0,001$), los segundos (180). Ewers y colaboradores, también encuentran correlación estadísticamente

significativa entre el plomo y el cadmio en sangre en niños de 4 a 14 años expuestos a plomo ($r=0,38$; $p<0,001$) (389).

En el presente trabajo se aprecia correlación estadísticamente significativa entre la concentración de plomo en sangre y la concentración de cadmio en sangre similar a las indicadas anteriormente ($\rho=0,291$; $p<0,001$; $N=297$).

5.- CORRELACIONES ENTRE CONCENTRACIONES DE DISTINTOS ELEMENTOS TRAZA EN ORINA

Aunque tanto en el grupo Control como en el conjunto de todos los grupos aparecen muchas correlaciones estadísticamente significativas entre los distintos elementos traza, sólo permanecen significativas cuando se correlaciona el 80% central de los valores, lo que parece indicar que el estado de hidratación es un factor común al sodio, potasio y cloruros (401) y a los elementos traza. De esta manera, aún corregida con la creatinina para evitar el efecto dilución de la orina, se encuentran valores extremos que hacen que aparezcan significativas algunas correlaciones. Realmente, la utilización de la relación de la concentración de un parámetro con la creatinina es una solución de compromiso para poder tomar muestras fácilmente, que en general, correlacionan bien con la concentración excretada al día (68). Así, la concentración de sodio, potasio y cloruros en orina corregidas con la creatinina correlacionan con la práctica totalidad de los elementos traza en orina, mientras que al excluir los valores por encima del percentil 90 o por debajo del percentil 10 sólo permanecen estadísticamente significativas la correlación con los cloruros, lo que se explica por el equilibrio de cargas que produce.

En el caso del mercurio, al tener un grupo claramente expuesto, sus valores extremos no se deben a ningún efecto de mayor concentración de la orina. De esta manera, en el grupo Clorocaústicas, claramente expuesto al mercurio, el mercurio urinario correlaciona con todos los elementos traza en orina sujetos a estudio no apareciendo ninguna correlación con el sodio, los cloruros o el potasio en orina, lo que indica algún

tipo de mecanismo de excreción compartido entre ellos que podría ser la común afinidad de todos ellos por la metalotioneína.

En el caso del cobre y zinc, la absorción de ambos metales se encuentra relacionada al competir por los mismos ligandos en el lugar de absorción (244) (54). Mientras que el zinc puede provocar una deficiencia de cobre, el exceso de cobre no provoca deficiencias de zinc (244) (294). Sin embargo, la concentración de ambos elementos en suero no aparece correlacionada en este trabajo. En la bibliografía consultada hay trabajos en los que tampoco aparece dicha correlación (514) (441), junto con otros en los que se refleja una correlación negativa: $r=-0,25$ ($N=200$; $p<0,001$) (180) y $r=-0,053$ ($N=1468$ hombres; $p<0,05$ $p>0,001$) (323), aunque, extremadamente pequeña en este último.

Los dos metales inducen en el organismo la biosíntesis de la proteína de transporte MT (240) (359) que se encuentra en la orina (436) y que por su afinidad por los metales (359) (378) su aumento en orina podría asociarse con la mayor eliminación de los mismos.

La correlación estadísticamente significativa entre la concentración de cobre en orina corregida con la creatinina y la concentración de zinc en orina corregida con la creatinina se manifiesta en el grupo Control ($r=0,431$; $p<0,001$; $N=134$), en todos los grupos ($\rho=0,425$; $p<0,001$; $N=257$) y sigue manteniéndose significativa con los valores centrales al ser excluidos los valores de ambas variables por encima del percentil 90 y por debajo del percentil 10 ($\rho=0,329$; $p<0,001$; $N=181$).

En la bibliografía consultada, todos los trabajos que correlacionan ambas variables encuentran una significación estadística (157) (551) (465) (430), que se indica relacionada con la MT (551) (157) o debida a procesos similares de concentración-dilución en la orina (430).

El cadmio también induce la síntesis de metalotioneína en muchos órganos, incluidos los riñones y el hígado (248), compitiendo también con el zinc en el lugar de absorción (62). Además, el complejo metalotioneína y cadmio representa el principal mecanismo de transporte de cadmio al riñón (369) encontrándose la mayor parte del cadmio en orina

unido a la metalotioneína (436). Mantiene, por lo tanto, cierta relación con el cobre y el zinc, que puede ser la causa de la correlación estadísticamente significativa entre el cadmio urinario y el cobre urinario. La correlación estadísticamente significativa entre los niveles de cadmio, zinc y cobre en orina se encuentra reflejada en la bibliografía (551) (552).

6.- CORRELACIONES SANGRE O SUERO CON ORINA

En el caso de elementos tóxicos, la determinación de su concentración en medios biológicos se utiliza para indicar la exposición al mismo. Sea cuál fuere el parámetro, el medio en que se mida y el momento de la toma de muestra, la medida puede indicar la intensidad de una exposición reciente, la exposición promedio diaria, o la cantidad total del agente acumulada en el organismo, es decir, la carga corporal total (219). Así, la concentración de cadmio (400) y mercurio (34) (581), en sangre son indicadores de la exposición reciente, mientras que la concentración de cadmio (369) (75) (296) y mercurio (34) en orina son indicadores de la acumulación de estos tóxico en el organismo. El nivel de plomo en la sangre es la medida más utilizada para determinar la exposición al plomo y refleja una exposición reciente (539) (313), aunque puede ser un buen indicador de la carga corporal en situaciones de exposición estable (75) dado que la concentración de plomo en orina es un índice poco fiable ya que sufre grandes fluctuaciones al cesar la exposición y está influido, entre otros factores, por el estado de la función renal (313), existiendo una baja asociación con la plumbemia por lo que no se utiliza en la práctica para apreciar el riesgo de exposición excesiva al plomo (271).

Por lo tanto, siendo lógica cierta correlación entre los niveles de un elemento en líquidos sanguíneos y orina, no es de extrañar que en algunos casos sea muy pequeña o, incluso, inexistente. En el presente trabajo, permanecen como estadísticamente

significativas las correlaciones entre los niveles de cadmio, mercurio y plomo en sangre y orina, y entre el zinc sérico y urinario.

El caso del mercurio ha sido especialmente estudiado para comprender la relación existente entre la concentración de mercurio en el aire ambiente y la de sangre u orina. Para cada individuo, la excreción urinaria de mercurio no es necesariamente proporcional al grado de exposición y es fluctuante (270) (581), pero cuando la exposición es relativamente estable, hay una excelente correlación entre la intensidad de la exposición y la concentración urinaria (433) (494).

Al igual que en este trabajo, en la bibliografía consultada aparece una correlación estadísticamente significativa entre el mercurio sanguíneo y el urinario. Akesson y colaboradores, en 1991, sobre una población de 83 dentistas, 153 auxiliares de odontología y 81 referentes no expuestos, encuentran una correlación estadísticamente significativa con un coeficiente de correlación de Pearson $r=0,5$ y una significación $p=0,001$ (16). Mazarrasa Mocwinkel, en 1985, sobre una población de trabajadores expuestos a vapor de mercurio indica un coeficiente de correlación $r=0,43$ con una significación menor de 0,05 (318). Además, Barregard y colaboradores, en 1990, encuentran correlaciones estadísticamente significativas tanto en 37 trabajadores expuestos a vapor de mercurio ($r=0,50$; $p<0,0001$) como en 39 trabajadores control no expuestos ($r=0,31$; $p<0,01$) (35). Dichos coeficientes de correlación concuerdan con los obtenidos en el presente trabajo:

- coeficiente de correlación de Spearman en todos los grupos $\rho=0,560$
- coeficiente de correlación de Pearson en grupo Control $r=0,424$

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1ª.- Las concentraciones de mercurio en sangre y orina en personas no laboralmente expuestas en España son, por término medio, 7,9 µg/L y 2 µg/g CR, respectivamente. El 95% de esa población tiene unos niveles de mercurio en sangre por debajo de 19 µg/L y de mercurio en orina por debajo de 4,3 µg/g CR. Los niveles de mercurio en sangre, aunque no los de orina, se encuentran más elevados que los encontrados en varios países europeos.

2ª.- La concentración de mercurio en sangre varía en función del consumo de pescado. La edad también incrementa los niveles de mercurio en sangre aunque de forma moderada, a razón de 0,07 µg/L de incremento por año. Tanto el número de empastes como el consumo de pescado no afectan de forma significativa a la concentración de mercurio en orina corregida con la creatinina.

3ª.- Se observa que de los dos grupos estudiados expuestos al mercurio, el grupo Clorocaústicas es de alta exposición, (14,4 µg/L en sangre y 19,4 µg/g CR en orina), mientras que el grupo Dentistas lo es de baja exposición (9,6 µg/L en sangre y 3,9 µg/g CR en orina).

4ª.- Los Dentistas se encuentran expuestos al vapor de mercurio por su tipo específico de trabajo y no por una contaminación de mercurio en el ambiente de las clínicas odontológicas como antiguamente ocurría.

5ª.- El selenio en sangre se encuentra correlacionado con el mercurio y cadmio en sangre y el cobre en suero. De todas las correlaciones encontradas, la más marcada es la relación selenio y mercurio, para la que se ha sugerido la formación de un complejo selenio-proteínas-mercurio que reduce la toxicidad del mercurio, provocando un incremento paralelo de ambos.

6ª.- Las concentraciones corregidas con la creatinina de los elementos traza en orina se encuentran correlacionadas entre sí por los mecanismos de formación de la orina, puesto que también se encuentran correlacionadas con el sodio y potasio. Sin embargo, la común afinidad de los metales pesados por el grupo de proteínas de metalotioneínas provoca un aumento conjunto en la excreción de los mismos. Así, el mercurio urinario en el grupo Clorocaústicas correlaciona con todos los elementos traza en orina sujetos a estudio no apareciendo ninguna correlación con el sodio, los cloruros o el potasio en orina.

7ª.- Una exposición al vapor de mercurio conlleva una mayor excreción urinaria de selenio en los momentos de mayor exposición al mercurio, existiendo una correlación entre el mercurio y el selenio urinarios, y una menor excreción de selenio en orina en los momentos de menor exposición, quizás provocada por la retención del complejo selenio-mercurio-proteína en tejidos.

8ª.- Las concentraciones encontradas en el presente trabajo para el resto de los elementos traza estudiados se encuentran dentro de los intervalos de referencia y son similares a los encontrados en la bibliografía.

9ª.- El hábito de fumar afecta especialmente a la concentración de cadmio en sangre incrementándola. El selenio, al contrario, se encuentra correlacionado negativamente con el hábito de fumar.

10^a.- En razón del sexo, se hallan diferencias, principalmente, en la concentración de cobre sérico, y en menor medida en la concentración de plomo sanguíneo.

11^a.- El número de eritrocitos, a pesar de ser el lugar de acumulación de Cd, Hg, Pb, Se y Zn, sólo afecta significativamente a la concentración de cobre sérico.

12^a.- Siendo lógica cierta correlación entre los niveles de un elemento en líquidos sanguíneos y orina, en el presente trabajo, permanecen como estadísticamente significativas las correlaciones entre los niveles de cadmio, mercurio y plomo en sangre y orina, y entre el zinc sérico y urinario. En el caso de mercurio, el único de todos ellos con personas laboralmente expuestas, los coeficientes de correlación de la bibliografía concuerdan con los obtenidos en el presente trabajo (ρ de Spearman = 0,560, en todos los grupos, y r de Pearson = 0,424, en el grupo Control).

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Abdulla M, Chmielnicka J. New aspects on the distribution and metabolism of essential trace elements after dietary exposure to toxic metals. *Biol. Trace Elem Res* 23:25-53 (1989)
- 2 Abe A, Yamashita, Noma A. Sensitive, direct colorimetric assay for copper in serum. *Clin Chem* 35:552-554 (1989)
- 3 Abraham JE, Svare CW, Frank CW. The effect of dental amalgam restorations on blood mercury levels. *J Dent Res* 63(1):71-73 (1984)
- 4 ACGIH. Threshold Limit Values (TLVs) for Chemical Substances and Physical Agents in the Work Environment with Intended Changes for 1983-84. Cincinnati, ACGIH, 1983
- 5 American Dental Association. *Dental Amalgam*. Chicago, American Dental Association 1985
- 6 Agemian H, Chau ASY. *Anal Chem* 50:13-16 (1978)
- 7 Agency for Toxic Substance and Disease Registry (ATSDR). Mercury toxicity. *Am Fam Physician* 46: 1731-41 (1992)
- 8 Agency for Toxic Substance and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for mercury. Atlanta: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (1989)
- 9 Aggarwal SK, Kinter M, Herold DA. Mercury determination in blood by gas chromatography-mass spectrometry. *Biol Trace Elem Res* 41(1-2):89-102 (1994)
- 10 Agocs MM, Etzel RA, Parrish RG, Paschal DC, Campagna PR, Cohen DS, Kilbourne EM, Hesse JL. Mercury exposure from interior latex paint. *N Engl J Med* 323(16):1096-101 (1990)
- 11 Aguilera de Benzo Z, Fraile R, Carrion N. Determination of lead in whole blood by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry using tube and platform atomizers and dilution with Triton X-100. *J Anal At Spectrom* 4:397-400 (1989)
- 12 Ahmed R, May K, Stoeppler M. Ultratrace analysis of mercury and methylmercury (MM) in rain water using cold vapour atomic absorption spectrometry. *Fresenius Z Anal Chem* 326:510-516 (1987).
- 13 Aikoh H, Yamate M, Takahashi M, Shibahara T. Determination of mercury levels in biological samples using the incomplete Cubane-type sulfur-Bridged nitriacetato molybdenum complex by a spectrophotometer. *Physiol Chem Phys & Med NMR* 29:109-122 (1997).
- 14 Airey D. Total mercury concentrations in human hair from countries in relation to fish consumption and location. *The Science of the Total Environment* 31:157-180 (1983)
- 15 Akagi H, Malm O, Branches FJP, Kinjo Y, Kashima Y, Guimaraes JRD, Oliveira RB, Karaguchi K, Pfeiffer C, Takizawa Y, Kato H. Human exposure to mercury due to goldmining in the Tapajos River Basin, Amazon, Brazil: Speciation of mercury in human hair, blood and urine. *Water Soli Pollut* 80:85-94 (1995)
- 16 Akesson I, Schutz A, Attewell R, Skerfving S, Glantz PO. Status of mercury and selenium in dental personnel: impact of amalgam work and own fillings. *Archives of Environmental Health* 46(2):102-109 (1991).
- 17 Aks SE, Erickson T, Branches FJ, Naleway C, Chou HN, Levy P, Hryhorczuk D. Fractional mercury levels in Brazilian gold refiners and miners. *J Toxicol Clin Toxicol* 33(1):1-10 (1995)

- 18 Alegría A, Barberá R, Clemente G, Farré R, García MJ, Lagarda MJ. Selenium and glutathione peroxidase reference values in whole blood and plasma of a reference population living in Valencia, Spain. *J Trace Elem Med Biol.* 10(4):223-228 (1996)
- 19 Alexander J, Thomassen Y, Aaseth J. Increased urinary excretion of selenium among workers exposed to elemental mercury vapor. *J Appl Toxicol* 3(3):143-145 (1983)
- 20 Anderson KA, Isaacs B, Tracy M, Moeller G. Cold-vapor generation for inductively coupled argon plasma/atomic emission spectrometric analysis. Part 3. Mercury. *J AOAC Int* 77(2):473-80 (1994).
- 21 Arcasoy A, Yildirmak T, Yildirmak Y, Tunc S, SINAB B, Kutluay L. A test in the diagnosis of marginal zinc deficiency in the geriatric people: serum zinc binding capacity. *Trace Elements and Electrolytes* 18(3):139-141 (2001)
- 22 Arnaud J. Determination du cuivre et du zinc. En: *Techniques d'analyse des oligoelements chez l'homme*. Chappuis P. Societe francophone d'etude et de reserche sur les elements-trace essentiels (SFERETE). Technique & Documentation-Lavoisier (1995) pp 77-92
- 23 Aronsson MA, Lind B, Nylander M, Nordberg M. Dental amalgam and mercury. *Biol Metals* 2:25-30 (1989)
- 24 Asano S, Eto K, Kurisaki E, Gunji H, Hiraiwa K, Sato M, Sato H, Hasuike M, Hagiwara N, Wasaka H. Acute inorganic mercury vapor inhalation poisoning. *Pathol Int* 50(3):169-174 (2000)
- 25 Aschner M, Aschner JL. Mercury neurotoxicity: mechanisms of blood-brain barrier transport. *Neurosci Biobehav Rev* 14: 169-176 (1990)
- 26 Baranowska I, Czernicki K, Aleksandrowicz R. The analysis of lead, cadmium, zinc, copper and nickel content in human bones from the upper Silesian industrial district. *Sci Total Environ* 159(2-3):155-162 (1995)
- 27 Barany E, Bergdahl IA, Bratteby LE, Lundh T, Samuelson G, Schutz A, Skerfving S, Oskarsson A. Trace element levels in whole blood and serum from Swedish adolescents. *Sci Total Environ* 286(1-3):129-141 (2002)
- 28 Barr RD, Woodger BA, Rees PH. Levels of mercury in urine correlated with the use of skin lightening creams. *Am J Clin Path* 59:36 (1973)
- 29 Barregard L, Sallsten G, Jarvholm B. People with high mercury uptake from their own dental amalgam fillings. *Occup Environ Med* 52(2):124-128 (1995).
- 30 Barregard L, Hultberg B, Schutz A, Sallsten G. Enzymuria in workers exposed to inorganic mercury. *Int Arch Occup Environ Health* 61(1-2):65-69 (1988)
- 31 Barregard L, Quelquejeu G, Sällsten G, Haguenoer JM, Nisse C. Dose-dependant elimination kinetics for mercury in urine: observations in subjects with brief but high-level exposure. *Int Arch Occup Environ Health* 68:345-348 (1996).
- 32 Barregard L, Sallsten G, Conradi N. Tissue levels of mercury determined in a deceased worker after occupational exposure. *Int Arch Occup Environ Health* 72(3):169-173 (1999)
- 33 Barregard L, Sallsten G, Jarvholm B. Mortality and cancer incidence in chloralkali workers exposed to inorganic mercury. *British Journal of Industrial Medicine* 47(2):99-104 (1990)
- 34 Barregard L, Sallsten G, Schutz A, Attewell R, Skerfving A, Jarvholm B. Kinetics of mercury in blood and urine after occupational exposure. *Archives of Environmental Health* 47(3):176-184 (1992).
- 35 Barregard L, Thomassen Y, Schutz A, Marklund SL. Levels of selenium and antioxidative enzymes following occupational exposure to inorganic mercury. *Sci Total Environ* 99(1-2):37-47 (1990)

- 36 Barregard L. Biological monitoring of exposure to mercury vapor. *Scand J Work Environ Health* 19 suppl1:45-49 (1993).
- 37 Battistone GC, Heffererren JJ, Miller RA y Cutright DE. Mercury: its relation to the dentist's health and dental practice characteristics. *J Am Dent Assoc* 92:1182-1188 (1976)
- 38 Baxter DC, Frech W. Critical comparison of two standard digestion procedures for the determination of total mercury in natural water samples by cold vapour atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 236:377-384 (1990).
- 39 Beaty RD, Kerber JD. *Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrometry*. Ed. Perkin Elmer Corporation, Norwalk, USA, 1993.
- 40 Begerow J, Zander D, Freier I, Dunemann L. Long-term mercury excretion in urine after removal of amalgam fillings. *Int Arch Occup Environ Health* 66:209-212 (1994).
- 41 Bergdahl IA, Schütz A, Hansson GA.. Automated determination of inorganic mercury in blood after sulfuric acid treatment using cold vapour atomic absorption spectrometry and inductively heated gold trap. *Analyst* 120(4):1205-1209 (1995).
- 42 Berglund A, Pohl L, Olsson s; Bergman M. Determination of the rate of release of intra-oral mercury vapor from amalgam. *J Dent Res* 67(9):1235-1242 (1988)
- 43 Berglund A. Estimation by a 24 hour study of the daily dose of intra-oral mercury vapor inhaled after releas from dental amalgam. *J Dental Res* 69:1646-1651 (1990)
- 44 Bermejo Barrera A. Aspectos generales de la toxicología de los metales. En: *Análisis de Elementos traza: aspectos bioquímicos, analíticos y clínicos*. Cocho JA, Escanero JF, González de Buitrago JM. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular 1998. Pp 89-99
- 45 Bernard SR, Purdue P. Metabolic models for methyl and inorganic mercury. *Health Phys* 46(3):695-699 (1984)
- 46 Bjorkman L, Lind B. Factors influencing mercury evaporation rate from dental amalgam fillings. *Scand J Dent Res* 100:354-360 (1992)
- 47 Bjorkman L, Sandborgh-Englund G, Ekstrand J. Mercury in saliva and feces after removal of amalgam fillings. *Toxicol Appl Pharmacol* 144(1):156-162 (1997).
- 48 Bloom NS, Porcella DB. Less mercury? *Nature* 357:695 (1994)
- 49 Bluhm RE, Bobbitt RG, Welch LW, Wood AJ, Bonfiglio JF, Sarzen C, Heath AJ, Branch RA. Elemental mercury vapour toxicity, treatment, and prognosis after acute, intensive exposure in chloralkali plant workers. Part I: History, neuropsychological findings and chelator effects. *Hum Exp Toxicol* 11(3):201-210 (1992)
- 50 Bluhm RE, Breyer JA, Bobbitt RG, Welch LW, Wood AJ, Branch RA. Elemental mercury vapour toxicity, treatment, and prognosis after acute, intensive exposure in chloralkali plant workers. Part II: Hyperchloraemia and genitourinary symptoms. *Hum Exp Toxicol* 11(3):211-215 (1992)
- 51 Boening DW. Ecological effects, transport and fate of mercury: a general review. *Chemosphere* 40:1335-1351 (2000)
- 52 Boogaard PJ, Houtsma AT, Journée HL, Van Sittert NJ. Effects of Exposure to elemental mercury on nervous system and the kidneys of workers producing natural gas. *Archives of Environmental Health* 51(2):108-115 (1996).
- 53 Boss CB, Fredeen KJ. *Concepts, Instrumentation, and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*. The Perkin-Elmer Corporation 1997
- 54 Bottomley S. Anemias sideroblásticas. En: *Wintrobe. Hematología Clínica*. Editorial Intermédica. Buenos Aires. 90 Edición (1995) (pag 750)
- 55 Brady JA, Gemmiti-Nunn D, Polan AK, Mitchell D, Weil R, Vianna NJ. The relationship of dental practice characteristics to blood mercury levels NYState dent J 46:420-424 (1980)

- 56 Branches FJ, Erickson TB, Aks SE, Hryhorczuk DO. The price of gold: mercury exposure in the Amazonian rain forest. *J Toxicol Clin Toxicol* 31(2):295-306 (1993)
- 57 Brockhaus A, Freier I, Ewers U, Jermann E, Dolgner R. Levels of cadmium and lead in blood in relation to smoking, sex, occupation, and other factors in an adult population of the FRG. *Int Arch Occup Environ Health* 52(2):167-75 (1983)
- 58 Brune D, Evje DM. Man's mercury loading from a dental amalgam. *Sci total environ* 44:51-63 (1985)
- 59 Brune D, Nordberg GF, Vesterberg O, Gerhardsson L, Wester PO. A review of normal concentrations of mercury in human blood. *Sci Total Environ* 100:235-82 (1991)
- 60 Brune D. Corrosion of amalgams. *Scand J dent Res* 89:506-514 (1981)
- 61 Brune D. Metal release from dental biomaterials. *Biomaterials* 7(3):163-175 (1986)
- 62 Brzoska MM, Moniuszko-Jakoniuk J. Interactions between cadmium and zinc in the organism. *Food Chem Toxicol* 39(10):967-980 (2001)
- 63 Buchet JP, Lauwerys R, Roels H, Bernard A, Bruaux P, Claeys F, Ducoffre G, Plaen PD, Staessen J, Amery A, Lijnen P, Thijs L, Rondia D, Sartor F, Remy AS, Nick L. Renal effects of cadmium body burden of the general population. *Lancet* 336:699-702 (1990)
- 64 Buchwald H. Exposure of dental workers to mercury. *Am Ind Hyg Assoc J* 33:492-502 (1972)
- 65 Budavari S. *The Merck Index 11th Ed.* Merck & Co, Rahway, NJ, 1989.
- 66 Buneaux F, Buisine A, Bourdon R. Continuous flow quantification of total mercury in whole blood, plasma, erythrocytes and urine by ICPAES. *J Anal Toxicol* 16:99-101 (1992)
- 67 Buneaux F. Détermination du mercure. En: *Techniques d'analyse des oligoéléments chez l'homme*. Chappuis P. Société francophone d'étude et de recherche sur les éléments-trace essentiels (SFERETE). Technique & Documentation-Lavoisier (1995) pp 109-120
- 68 Campbell BG. Mercury, cadmium and arsenic: *Toxicology and laboratory investigation*. *Pathology* 31:17-22 (1999)
- 69 Campbell DM. Trace element needs in human pregnancy. *Proc Nutr Soc.* 47:45-53 (1998)
- 70 Campillo N, Viñas P, López garcía I, Hernández Córdoba M. Selenium determination in biological fluids using zeeman background correction electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytical Biochemistry* 280:195-200 (2000)
- 71 Carnrick GR, Manning DC, Slavin W. Determination of Selenium in Biological-Materials with Platform Furnace Atomic-Absorption Spectroscopy and Zeeman Background Correction. *Analyst* 108:1297-1312 (1983).
- 72 Cassar Pullicino VN, Taylor DN. Multiple metallic mercury emboli. *Br J Radiol* 58:470-474 (1985)
- 73 Castro Cels M, Gascón Fora S, Pujol Forn M, Sans Roca JM, Vicente Pla L. *Validación de métodos analíticos*. Comisión de Normas de buena fabricación y control de calidad. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI) (1989)
- 74 Cavalleri A, Gobba F. Reversible color vision loss in occupational exposure to metallic mercury. *Environ Res* 77(2):173-177 (1998).
- 75 Cerna M, Spevackova V, Cejchanova M, Benes B, Rossner P, Baronova H, Ocadlikova D, Smid J, Kubimova R. Population-based biomonitoring in the Czech Republic—the system and selected results. *Sci Total Environ* 204(3):263-270 (1997).
- 76 Chan S, Gerson B, Reitz RE, Sadjadi SA. Technical and clinical aspects of spectrometric analysis of trace elements in clinical samples. *Clinics in Laboratory Medicine* 18(4):615-629 (1998).

- 77 Chang LW. The neurotoxicology and pathology of organomercury, organolead, and organotin. *J Toxicol Sci* 15 Suppl 4:125-151 (1990).
- 78 Chang SB, Siew C, Gruninger SE. Factors affecting blood mercury concentrations in practicing dentists. *J Dent Res* 71(1):66-74 (1992).
- 79 Chapman L, Chan HM. The influence of nutrition on methyl mercury intoxication. *Environ Health Perspect* 108(Suppl 1):29-56 (2000).
- 80 Chappuis P, Poupon J, Rousselet F. A sequential and simple determination of zinc, copper and aluminium in blood samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Clin Chim Acta* 206:155-165 (1992)
- 81 Chappuis P. Determination du selenium. En: *Techniques d'analyse des oligoelements chez l'homme*. Chappuis P. Societe francophone d'etude et de reserche sur les elements-trace essentiels (SFERETE). Technique & Documentation-Lavoisier (1995) pp 149-158
- 82 Chen G, Jackson KW. *Spectrochim Acta Part B* 53B:981-991 (1998)
- 83 Cherian MG, Clarkson TW. Biochemical changes in rat kidney on exposure to elemental mercury vapor: effect on biosynthesis of metallothionein. *Chem Biol Interact* 12(2):109-120 (1976)
- 84 Cherian MG, Hursh JB, Clarkson TW, Allen J. Radioactive mercury distribution in biological fluids and excretion in human subjects after inhalation of mercury vapor. *Arch Environ Health* 33:109-114 (1978).
- 85 Cherian Mg, Nordberg M. Cellular adaptation in metal toxicology and metallothionein. *Toxicology* 28:1-15 (1983)
- 86 Chou PP. Cinc. En: Pesce AJ, Kaplan LA. *Química Clínica Métodos*. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires. 1990
- 87 Christensen JM, Angello H. A rapid direct determination of cadmium in blood by anodic stripping voltametry. *Scand J Clin Lab Invest* 38:655-658 (1978)
- 88 Clark LC, Combs GF Jr, Turnbull BW, Slate EH, Chalker D, Chow J etal. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. *J Am Med Assoc* 276:1957-1963 (1996)
- 89 Clark RF, Strukle E, Williams SR, Manoguerra AS. Selenium poisoning from a nutritional supplement. *J Am Med Assoc* 275:1087-1088 (1996)
- 90 Clarkson TW. Epidemiological and experimental aspects of lead and mercury contamination of food. *Fd Cosmet Toxicol* 9:229 (1971)
- 91 Clarkson TW. The biological properties and distribution of mercury. *Biochem J* 130:61 (1972)
- 92 Clarkson TW, Friberg L, Nordberg GF, Sager PR. Biological monitoring of metals. New York, London, Plenum Press, 686 pp (1988)
- 93 Clarkson TW, Hursh JB, Sager PR, Syversen TLM. Mercury. En Clarkson TW, Friberg L, Nordberg GF, Sager PR. *Biological monitoring of Toxic Metals*. Plenum, New York, London. (1988) pp 199-246
- 94 Clarkson TW. Mercury: Major issues in environmental health. *Environ Health Perspect* 100:31-8 (1993)
- 95 Clavel JP, Chalvignac B, Thuillier A. Selenium determination in biological fluids by electrothermal atomic absorption spectrophotometry. *J Pharm Clin* 2(1):55-64 (1983).

- 96 Cocho JA. Análisis de elementos traza. En: *Análisis de Elementos traza: aspectos bioquímicos, analíticos y clínicos*. Cocho JA, Escanero JF, González de Buitrago JM. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular 1998. Pp 113-141
- 97 Cocho JA. Espectroscopía de absorción atómica. Optimización de condiciones instrumentales y analíticas en cámara de grafito y generación de hidruros. En: Fundación MAPFRE Medicina. *Metales pesados tóxicos: Normativa actual y técnicas de análisis*. Ed. MAPFRE 1996. pp 81-110
- 98 Cohen HJ, Brown MR, Hamilton D, Lyons-Patterson J, Avissar N, Liegey P. Glutathione peroxidase and selenium deficiency in patients receiving home parenteral: nutrition: time course for development of deficiency and repletion of enzyme activity in plasma and blood cells. *AM J Clin Nutr* 49:132-139 (1996).
- 99 Consejo General de Colegios Oficiales de Medicamentos. Base de datos del medicamento. <http://www.portalfarma.com/home.nsf> Junio 2002
- 100 Cordier S, Deplan F, Mandereau L, Hemon D. Paternal exposure to mercury and spontaneous abortions. *Br J Ind Med*. 48(6):375-381 (1991).
- 101 Cornelis R, Heinzow B, Herber RF, Christesen JM, Poulsen OM, Sabbioni E, Templeton DM, Thomassen Y, Vahter M, Vesterberg O. Sample collection guidelines for trace elements in blood and urine. *J Trace Elements Med Biol* 10(2):103-127 (1996).
- 102 Cornelis R, Sabbioni E, Van der Venne MT. Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European Community. VII. Review of trace elements in blood, serum and urine of the Belgian population and critical evaluation of their possible use as reference values. *Sci Total Environ* 158(1-3):191-226 (1994)
- 103 Corns WT, Ebdon L, Hill SJ, Stockwell PB. Effects of moisture on the cold vapour determination of mercury and its removal by use of membrane dryer tubes. *Analyst* 117:717-720 (1992).
- 104 Corns WT, Stockwell PB, Jameel M. Rapid method for the determination of total mercury in urine samples using cold vapour atomic fluorescence spectrometry. *Analyst* 119:2481-2484 (1994).
- 105 Costigan MG, Rustom R, Bone JM, Shenkin A. Origin and significance of urinary N-acetyl- β ,D-glucosaminidase (NAG) in renal patients with proteinuria. *Clinica Chimica Acta* 255:133-144 (1996)
- 106 Cotton A, Wilkinson G. *Advanced Inorganic Chemistry*. John Wiley and sons, New York, NY (1988)
- 107 D'Haese PC, Lamberts LV, Liang L et al. Elimination of matrix and spectral interferences in the measurement of lead and cadmium in urine and blood by electrothermal atomic absorption spectrometry with deuterium background correction. *Clin Chem* 37:1583-1588 (1991)
- 108 Da Cunha Ferreira RMC, Monreal JI, Villa Y. Teratogenicity of zinc deficiency in the rat: Study of the fetal skeleton. *Teratology* 39:181-194 (1989)
- 109 Davis A, Bloom NS, Que Hee SS. The environmental geochemistry and bioaccessibility of mercury in soils and sediments: a review. *Risk Anal* 17(5):557-569 (1997)
- 110 Dawson JB, Ellis DJ, Newton-John H. Direct estimation of copper in serum and urine by AAS. *Clin Chim Acta* 21:33-42 (1968)
- 111 de Kom JF, van der Voet GB, de Wolff FA. Mercury exposure of maroon workers in the small scale gold mining in Suriname. *Environ Res* 77(2):91-97 (1998).
- 112 De Rosa CT, Pohl HR, Williams M, Ademoyero AA, Chou CHSJ, Jones DE. Public Health implications of environmental exposures. *Environmental Health Perspectives* 106(Suppl 1):369-378 (1998)

- 113 Del Castillo B. Espectroscopía de emisión de plasma En: Valls O, Del Castillo B. *Técnicas Instrumentales en Farmacia y Ciencias de la Salud*. Ed. Piros (1998)
- 114 Delves HT, Campbell MJ. Measurements of total lead concentrations and of lead isotope ratios in whole blood by use of inductively coupled plasma source mass spectrometry. *J Anal At Spectrom* 3:343-348 (1988)
- 115 Denke M, Wilson JD. Nutrición y necesidades nutricionales. En: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. Harrison: *Principios de Medicina Interna 14ª Edición*. Ed. McGraw-Hill B Interamericana de España (1998)
- 116 Díaz Romero C, Henríquez Sanchez P, López Blanco F, Rodríguez Rodríguez E, Serra Majem L. Serum Koper and zinc concentrations in a representative sample of the Canarian population. *J Trace Elem Med Biol* 16:75-81 (2002)
- 117 Dillon LJ, Hilderbrand DC, Groon KS. Flaméeles atomic absorption determination of selenium in blood cells. *J Trace Elem Med Biol*. 9:130-135 (1995)
- 118 DiSilvestro RA. Zinc in relation to diabetes and oxidative disease. *J Nutr* 130(5S Suppl):1509S-1511S (2000)
- 119 Domenech Massons JM. *Métodos estadísticos en ciencias de la salud*. Editorial Gráficas Signo SA. Barcelona. 1997
- 120 Drake EN, Hain TD. Palladium(II), magnesium(II) and barium(II) nitrate combinations for matrix modification in electrothermal atomic absorption measurement of total selenium in human urine. *Analytical Biochemistry* 220:336-339 (1994)
- 121 Drexler H, Schaller KH. The mercury concentration in breast milk resulting from amalgam fillings and dietary habits. *Environ Res* 77(2):124-129 (1998).
- 122 Duffield AJ, Thomson CD, Hill KE, Williams S. An estimation of selenium requeriments for New Zealanders. *Am J Clin Nutr* 70:896-903 (1999)
- 123 Dunn JD, Clarkson TW, Magos L. Ethanol reveals novel mercury detoxificacon step in tissues. *Science* 213:1123 (1981)
- 124 Dunn JD, Clarkson TW, Magos L. Ethanol-increased exhalation of mercury in mice. *Br J ind Med* 35:241-244 (1978)
- 125 Dyall Smith D, Scurry J. Topical mercurials *J Am Acad Dermatol* 25: 1097-1098 (1991)
- 126 Eckerlin RH, Hoult DW, Carnrick GR. Selenium Determination in Animal Whole Blood using Stabilized Temperature Platform Furnace and Zeeman Background Correction. *At Spectrosc* 8(1):64-66 (1987)
- 127 Eggleston DW, Nylander M. Correlation of dental amalgam with mercury in brain tissue. *J Prosthet Dent* 58(6):704-707 (1987)
- 128 Ehrenberg RL, Blair Smith A, Mcmanus KP, Hannon WH, Brightwell WS, Lowry LK, Anger WK, Vogt RL, Brondum J, Hudson PJ. *Health hazard evaluation report*, Cincinnati , Ohio, NIOSH 65 pp (HETA, 83-465-1674) (1986)
- 129 Ekstrand J, Bjorkman L, Edlund C, Sandborg-Englund G. Toxicological aspects on the release and systemic uptake of mercury from dental amalgam. *Eur J Oral Sci* 106:678-686 (1998)
- 130 Eley BM. The future of dental amalgam: a review of the literature. Part 2: Mercury exposure in dental practice. *Br Dent J* 182(8):293-297 (1997)
- 131 Elinder CG, Gerhardsson L, Oberdoerster G. Biological monitoring of metals En: Clarkson TW, Friberg L, Nordberg GF y Sager PR. *Biological monitoring of metals*, New York, London, Plenum Press pp 1-71 (1988)

- 132 Elinder CG, Kjellstrom T, Lind B, Linnman L, Piscator M, Sundstedt K. Cadmium exposure from smoking cigarettes: variations with time and country where purchased. *Environ Res* 32:220-227 (1983)
- 133 Elinder CG, Lind B, Kjellstrom T, Linnman L, Friberg L. Cadmium in kidney cortex, liver and pancreas from Swedish autopsies: Estimation of biological half time in kidney cortex, considering calorie intake and smoking habits. *Archives of Environmental Health* 31:292-301 (1976)
- 134 Ellingsen DG, Holland RI, Thomassen Y, Landro-Olstad M, Frech W, Kjuus H. Mercury and selenium in workers previously exposed to mercury vapour at a chloralkali plant. *British Journal of Industrial Medicine* 50(8):745-752 (1993).
- 135 Ellingsen DG, Nordhagen HP, Thomassen Y. Urinary selenium excretion in workers with low exposure to mercury vapour. *J Appl Toxicol* 15(1):33-36 (1995)
- 136 Ellingsen DG, Thomassen Y, Aaseth J, Alexander J. Cadmium and selenium in blood and urine related to smoking habits and previous exposure to mercury vapour. *Journal of Applied Toxicology* 17(5):337-343 (1997).
- 137 Ellingsen DG, Thomassen Y, Langard S, Kjuus H. Urinary mercury excretion in chloroalkali workers after cessation of exposure. *Scand J Work Environ Health* 19:334-341 (1993)
- 138 Elsenhans B, Strugala GJ, Schafer SG. Small-intestinal absorption of cadmium and the significance of mucosal metallothionein. *Human and Experimental Toxicology* 16:429-434 (1997)
- 139 Emteborg H, Bulska E, Frech W, Baxter DC. Determination of total mercury in human whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry following extraction. *J Anal At Spectrom* 7(2):405-408 (1992).
- 140 Engqvist A, Colmsjo A, Skare I. Speciation of mercury excreted in feces from individuals with amalgam fillings. *Archives of Environmental Health* 53(3):205-213 (1998).
- 141 Environmental Protection Agency. *Air quality criteria for lead*. EPA -600/8-83/028aF-dF. Wasington DC (1986)
- 142 Enwonwu CO. Potential health hazard of use of mercury in dentistry: Critical review of the literature. *Environ Res* 42:251-274 (1987)
- 143 Ericson SP, Arceo CS, Ayd SW, Kronholm KG, Mchalsky ML, Rabinow BE, Weltzer JA. Sampling and Analysis Techniques for Monitoring Serum for Trace-Elements. *Clin Chem* 32(7):1350-1356 (1986).
- 144 Escanero JF. Minerales: Elementos Traza. En: *Análisis de Elementos traza: aspectos bioquímicos, analíticos y clínicos*. Cocho JA, Escanero JF, González de Buitrago JM. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular 1998. Pp 11-28
- 145 Ewers U, Krause C, Schultz C, Wilhelm M. Reference values and human biological monitoring values for environmental toxins. *Int Arch Occup Environ Health* 72:253-260 (1999)
- 146 Falchuk KH. Alteraciones de los oligoelementos. En: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. *Harrison: Principios de Medicina Interna 14ª Edición*. Ed. McGraw-Hill B Interamericana de España (1998)pp 556-559
- 147 Fang SC. Interaction of selenium and mercury in the rat. *Chem Biol Interact* 17(1):25-40 (1977)
- 148 Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. Parámetros de laboratorio de importancia clínica. *Harrison: Principios de Medicina Interna 14ª Edición Volumen II*. Ed. McGraw-Hill B Interamericana de España (1998)
- 149 Feldman C. Perchloric acid procedure for wet-ashing organics for the determination of mercury (and other metals). *Analytical Chemistry* 46(11):1606-1609 (1974).

- 150 Fell GS, Lyon TDB. Zinc. En: Herber RFM, Stoeppler M. Trace element análisis in biological specimens. Ed Elsevier Science. Ámsterdam (1994) pag 541-558
- 151 Fernández MD. Evaluación de la toxicidad del plomo y cadmio por el laboratorio clínico. En: Metales pesados tóxicos: Normativa actual y técnicas de análisis. Fundación Mapfre Medicina. Madrid. 1996. pp 51-62
- 152 Fernández MD. Cobre. En: *Análisis de Elementos traza: aspectos bioquímicos, analíticos y clínicos*. Cocho JA, Escanero JF, González de Buitrago JM. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular 1998. Pp 223-259
- 153 Ferrara R, Maserti BE, Andersson M, Edner H, Ragnarson P, Svanberg S, Hernandez A. Atmospheric mercury concentrations and fluxes in the Almadén district (Spain). *Atmospheric Environment* 32(22):3897-3904 (1998).
- 154 Feuerstein M, Schlemmer G. Determination of Se in human serum by GFAAS with transversely heated graphite atomizer and longitudinal Zeeman-effect background correction. *Atomic Spectroscopy* 20(3):180-185 (1999)
- 155 Figueroa A. Mercurio y metilmercurio. En: Albert LA. *Curso básico de toxicología ambiental*. Ed LIMUSA (México) 1990 pp 123-141
- 156 Flanagan PR, McLellan JS, Haist J, Cherian MG, Chamberlain MJ, Valberg LS. Increased dietary cadmium absorption in mice and human subjects with iron deficiency. *Gastroenterology* 74:841-846 (1978)
- 157 Folch J, Ortega A, Cabre M, Paternain JL. Urinary levels of metallothioneins and metals in subjects from a semiindustrialized area in Tarragona Province of Spain. *Biol Trace Elem Res* 63(2):113-121 (1998)
- 158 Foulkes EC. Role of metallothionein in transport of heavy metals. En: Foulkes EC. *Biological roles of metallothionein*. Amsterdam, Oxford, New York. Elsevier Science Publishers. Pag 131-140 (1982)
- 159 Friberg L, Piscator M, Nordberg G, Kjellstrom T. *Cadmium in the environment 2nd Ed*. Cleveland, Ohio, CRC Press. Pag 248 (1974)
- 160 Friberg L, Vahter M. Assesment of exposure to lead and cadmium through biological monitoring: results of a UNEP/WHO global study. *Environ Res* 30 95-128 (1983)
- 161 Ganther HE, Goudie C, Sunde ML, Kopecky MJ, Wagner P, Hoekstra WG. Selenium: relation to decreased toxicity of methylmercury added to diets containing tuna. *Science* 175:1122-1124 (1972)
- 162 Ganther HE. Modification of methylmercury toxicity and metabolism by selenium and vitamin E: possible mechanisms. *Environ Health Perspect* 25:71-76 (1978)
- 163 García Ariño C. Mercurio En: *Medicina del Trabajo*. Martí Mercadal JA, Desoille H. Editorial Masson 2^a Edición 1993
- 164 García Ariño C. Zinc En: *Medicina del Trabajo*. Martí Mercadal JA, Desoille H. Editorial Masson 2^a Edición 1993 (pp 320-323)
- 165 García Tasende MS, Casas S. Química de los metales. En: *Análisis de Elementos traza: aspectos bioquímicos, analíticos y clínicos*. Cocho JA, Escanero JF, González de Buitrago JM. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular 1998. Pp 29-66
- 166 Gardiner PHE, Littlejohn D, Halls DJ, Fell GS. Direct determination of selenium in human blood serum and plasma by electrothermal atomic absorption spectrometry. *J trace Elements Med Biol* 9:74-81 (1995)
- 167 Gay DD, Cox RD, Reinhardt JW. Chewing releases mercury from fillings. *Lancet* 8123:985-986 (1979)

- 168 Gerhard I, Monga B, Waldbrenner A, Runnebaum B. Heavy metals and fertility. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 54:593- 611 (1998)
- 169 Glynn AW, Lind Y. Effect of long-term sodium selenite supplementation on levels and distribution of mercury in blood, brain and kidneys of methyl-exposed female mice. *Pharmacol Toxicol* 77(1):41-47 (1995).
- 170 Golimowski J, Valenta P, Stoeppler M, Nürnberg HW. A rapid high-performance analytical procedure with simultaneous voltammetric determination of toxic trace metals in urine. *Talanta* 26:649-656 (1979)
- 171 Gómez E, del Diego C, Orden I, Elosegui LM, Borque L, Escanero JF. Longitudinal study of serum copper and zinc levels and their distribution in blood proteins after acute myocardial infarction. *J Trace Elem Med Biol* 14(2): 65-70 (2000)
- 172 González Buitrago JM, González Rodríguez C. Cadmio. En: *Análisis de Elementos traza: aspectos bioquímicos, analíticos y clínicos*. Cocho JA, Escanero JF, González de Buitrago JM. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular 1998.
- 173 González Estecha M, Romero Martín M, Jorge Gómez JJ, Serrador Ramo J, Galarza Linder B, Domínguez Carmona M. Nueva técnica para la determinación del cadmio. *Medicina y Seguridad del Trabajo* 167:29-34 (1995)
- 174 González Revaldería J, Cocho de Juan JA. Metodología recomendada para la medición del contenido de cobre en especímenes biológicos. *Química Clínica* 21(2):62-66 (2002)
- 175 González Revaldería J, de Paula Ruiz M, Pascual Durán T, Astray Mochales G, Pérez Meixeira A, Miravalles González E. Concentración de plomo en sangre en un área sanitaria de la Comunidad de Madrid. *Química Clínica* 19(1):10-13 (2000)
- 176 González Revaldería J. Toma y preparación de especímenes. En: *Análisis de Elementos traza: aspectos bioquímicos, analíticos y clínicos*. Cocho JA, Escanero JF, González de Buitrago JM. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular 1998. Pp 101-112
- 177 Gothe CJ, Langworth S. Biological Monitoring of exposure to metallic mercury. *Clinical Toxicology* 23(4-6):381-389 (1985).
- 178 Goyer RA. Nutrition and metal toxicity. *Am J Clin Nutr* 61(3 suppl):646S-650S (1995).
- 179 Goyer RA. Toxic and essential metal interactions. *Annu Rev Nutr* 17:37-50 (1997).
- 180 Grandjean P, Nielsen GD, Jorgensen PJ, Horder M. Reference intervals for trace elements in blood: significance of risk factors. *Scand J Clin Lab Invest* 52(4):321-337 (1992)
- 181 Grandjean P, Olsen NB, Hollnagel H. Influence of smoking and alcohol consumption on blood lead levels. *Int Arch Occup Environ Health* 48(4):391-397 (1981)
- 182 Grandjean P, Weihe P, Jorgensen PJ, Clarkson T, Cernichiari E, Videro T. Impact of maternal seafood diet on fetal exposure to mercury, selenium and lead. *Archives of Environmental Health* 47(3):185-195 (1992).
- 183 Gronka PA, Bobkoskie RL, Tomchick GJ, Bach F, Rakow AB. Mercury vapor exposures in dental offices. *J Am Dent Assoc* 81:923-925 (1970)
- 184 Guemori L, Artur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathion-peroxidase and catalase in blood. *Clin Chem* 37:1932-1937 (1991)
- 185 Guillard O. Determination du cadmium. En: *Techniques d'analyse des oligoelements chez l'homme volume 2*. Pineau A, Guillard O. Societe francophone d'etude et de reserche sur les elements-trace essentiels (SFERETE). Editions Tec &Doc (2001) pp 66-83

- 186 Gulson BL, Jameson CW, Mahaffey KR, Mizon KJ, Patison N, Law AJ, Korsch MJ, Salter MA. Relationships of lead in breast milk to lead in blood, urine and diet of the infant and mother. *Environmental Health Perspectives* 106(10):667-674 (1998).
- 187 Guo T, Baasner J, Gradl M, Kistner A. Determination of mercury in saliva with flow-injection system. *Analytica Chimica Acta* 320:171-176 (1996).
- 188 Guo T, Baasner J. Determination of mercury in urine by flow-injection cold vapour atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 278:189-196 (1996).
- 189 Guo T, Baasner J. Online microwave sample pretreatment for the determination of mercury in blood by flow injection cold vapor atomic spectrometry. *Talanta* 40(12):1927-1936 (1993).
- 190 Gustafson A, Schutz A, Andersson P, Skerfving S. Small effect on plasma selenium level by occupational lead exposure. *Sci Total Environ* 66:39-43 (1987)
- 191 Hac E, Krechniak J. Mercury concentrations in hair exposed in vitro to mercury vapor. *Biological Trace Element Research* 39:109-115 (1993).
- 192 Hagmar L, Persson-Moschos M, Akesson B, Schütz A. Plasma levels of selenium, selenoprotein P and glutathione peroxidase and their correlations to fish intake and serum levels of thyrotropin and thyroid hormones; A study on latvian fish consumers. *European Journal of Clinical Nutrition* 52:796-800 (1998)
- 193 Halbach S. Amalgam tooth fillings and man's mercury burden. *Human and Experimental Toxicology* 13:496-501 (1994).
- 194 Hamada T, Tanimoto A, Iwai S, Fujiwara H, Sasaguri Y. Cytopathological changes induced by cadmium-exposure in canine proximal tubular cells: A cytochemical and ultrastructural study. *Nephron* 68:104-111 (1994)
- 195 Hambidge M. Human zinc deficiency. *J Nutr* 130(5S Suppl):1344S-1349S (2000)
- 196 Handke JL, Pryor P. *Health hazard evaluation report*, Cincinnati, Ohio, NIOSH 26 pp. (HETA 78-034-930) (1981)
- 197 Hanna CP, Tyson JF, McIntosh S. Determination of total mercury in waters and urine by flow injection atomic absorption spectrometry procedures involving on- and off-line oxidation of organomercury species. *Analytical Chemistry* 65:653-656 (1993)
- 198 Hanson M, Pleva J. The dental amalgam issue. A review. *Experientia* 47(1):9-22 (1991)
- 199 Harnly JM. Instrumentation. En: Jackson KJ. *Electrothermal Atomization for Analytical Atomic Spectrometry*. Ed. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, England, 1999.
- 200 Haschke F, Ziegler EE, Edwards BB, Fomon SJ. Effect of iron fortification of infant formula on trace mineral absorption. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 5:768-773 (1986)
- 201 Hasegawa T, Haraguchi H. *ICPs in analytical atomic spectrometry*. Montanser A, Golightly DW, Eds, 2d ed. (VCH, New York, 1992)
- 202 Hawley JE, Ingle JD Jr. Improvements in cold vapor atomic absorption determination of mercury. *Analytical Chemistry* 47(4):719-723 (1975).
- 203 Heintze U, Edwardsson S, Derand T, Birkhed D. Methylation of mercury from dental amalgam and mercuric chloride by oral streptococci in vitro. *Scand J Dent Res* 91(2):150-152 (1983).
- 204 Helin I, Heinrich C, Young LW. Radiological case of the month: ingestion of mercury (quicksilver) from unknown source but without risk. *Am J Dis Child* 137(2):175-176 (1983).
- 205 Herrero E, Serrano E, Sánchez T, Coperías JL. Plomo. En: *Análisis de Elementos traza: aspectos bioquímicos, analíticos y clínicos*. Cocho JA, Escanero JF, González de Buitrago JM. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular 1998. Pp 537-558

- 206 Hidalgo J, Aschner M, Zatta P, Vasak M. Roles of the metallothionein family of proteins in the central nervous system. *Brain Res Bull* 55(2):133-145 (2001)
- 207 Hilmy MI, Rahim SA, Abbas AH. Normal and lethal mercury levels in human beings. *Toxicology* 6(2):155-159 (1976)
- 208 Hock C, Drasch G, Golombowski S, Müller-Spahn F, Willershausen-Zönnchen B, Schwarz P, Hock U, Growdon JH, Nitsch RM. Increased blood mercury levels in patients with Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 105(1):59-68 (1998).
- 209 Holcome JA, Gilmutdinov AK. Fundamental Chemical and Physical Processes in Electrothermal Atomizers: En K.J. Jackson. *Electrothermal Atomization for Analytical Atomic Spectrometry*. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, England 1999
- 210 Hongo T, Abe T, Ohtsuka R, Komai M, Okiyama T, Amano K, Toyo-oka T, Suzuki T. Urinary mercury monitoring of university staff and students occasionally exposed to mercury vapor. *Industrial Health* 32:17-27 (1994).
- 211 Hongo T, Suzuki T, Himeno S, Watanabe C, Satoh H, Shimada Y. Does mercury vapor exposure increase urinary selenium excretion? *Ind Health* 23(2):163-165 (1985)
- 212 Horng CJ. Simultaneous determination of urinary zinc, lead and copper concentrations in steel production workers by differential-pulse anodic stripping voltametry. *Analyst* 121(10):1511-1514 (1996)
- 213 House WA, Welch RM. Bioavailability of and interaction between zinc and selenium in rats fed wheat grain intrinsically labeled with ⁶⁵Zn and ⁷⁵Se. *J Nutr* 119:916-921 (1989)
- 214 Hu H. Exposure to metals. *Prim Care* 27(4):983-996 (2000)
- 215 Hu H. Intoxicación por metales pesados. En: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. *Harrison. Principios de Medicina Interna 14ª Edición* (1998). Editorial McGraw Hill. pp 2922-2927
- 216 Huberlant JM, Roels H, Buchet JP, Bernard A, Lauwerys R. Evaluation de l'exposition au mercure et de ses répercussions éventuelles sur la santé du personnel d'une trentaine de cabinets dentaires. *Cah Med Trav* 20(2):109-127 (1983)
- 217 Hursh JB, Clarkson TW, Cherian MG, Vostal JV, Mallie RV. Clearance of mercury (Hg-197, Hg-203) vapor inhaled by human subjects. *Arch Environ Health* 31:302-309 (1976)
- 218 Imai S, Kubo Y, Yonetani A, Ogawa N, Kikuchi Y. *J Anal At Spectrom* 13:1199-1202 (1998)
- 219 Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INST). *Límites de exposición profesional para Agentes Químicos en España 2001-2002*. (2000) <http://www.mtas.es/indht/practice/vlas.htm>.
- 220 Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INST). *Nota Técnica de Prevención 108: Criterios toxicológicos generales para los contaminantes químicos*. Ministerio de Trabajo y asuntos Sociales. INSHT. (1984) (http://www.mtas.es/insht/ntp/ntp_108.htm)
- 221 Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INST). *Nota Técnica de Prevención 109: Valores límite biológicos para el control de exposición a metales*. Ministerio de Trabajo y asuntos Sociales. INSHT. (1984) (http://www.mtas.es/insht/ntp/ntp_109.htm)
- 222 Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INST). *Nota Técnica de Prevención 229: Mercurio inorgánico y metálico: protocolo de vigilancia médica*. Ministerio de Trabajo y asuntos Sociales. INSHT. (1989) (http://www.mtas.es/insht/ntp/ntp_229.htm)
- 223 Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INST). *Nota Técnica de Prevención 526: Valores límite de exposición profesional en la Unión Europea y en España*. Ministerio de Trabajo y asuntos Sociales. INSHT. 1999 (http://www.mtas.es/insht/ntp/ntp_526.htm)

- 224 Ip C, Hayes C, Budnick RM, Ganther HE. Chemical form of selenium, critical metabolites, and cancer prevention. *Cancer Res* 51:595-600 (1991)
- 225 Iyengar V, Woittiez J. Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. *Clin Chem* 34:474-481 (1988)
- 226 Iyengar V. Variations in urinary excretion of zinc and Koper in normal female human subjects: a long-term follow-up in the same subjects. *Trace Elem Med* 6:47-49 (1989)
- 227 Jackson KW, Chen G. Atomic absorption, atomic emission, and flame emission spectrometry. *Anal Chem* 68:231R-256R (1996)
- 228 Jackson KW. Electrothermal atomic absorption spectrometry and related techniques. *Anal Chem* 72:159R-167R (2000)
- 229 Jacobs JM, Carmichael N, Cavanagh JB. Ultrastructural changes in the nervous system of rabbits poisoned with methyl mercury. *Toxicol Appl Pharmacol* 39(2):249-261 (1977)
- 230 Jakubowski M, Piotrowski J, Trojanowska B. Binding of mercury in the rat: studies using ²⁰³HgCl₂ and gel filtration. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1970 May;16(3):743-753.
- 231 Jarup L, Berglund M, Elinder C, Nordberg G, Vahter M. Health effects of cadmium exposure - a review of literature and risk estimate. *Scandinavian Journal of Work and Environmental Health* 23:31-36 (1998)
- 232 Jarup L, Rogenfelt A, Elinder CG, Nogawa K, Kjellstrom T. Half time of cadmium in blood of workers after cessation of exposure. *Scand J Work Environ Health* 9:327-331 (1983)
- 233 Johnson MA, Murphy CL. Adverse effects of high dietary iron and ascorbic acid on copper status in copper-deficient and copper-adequate rats. *Am J Clin Nutr* 47:96-101 (1988)
- 234 Jokstad A, Thomassen Y, Bye E, Clench-Aas J, Aaseth J. Dental amalgam mercury. *Pharmacology & Toxicology* 70(4):308-313 (1992).
- 235 Jokstad A. Mercury exposure of dentist. *J Norw Dent Assoc* 97:498-507 (1987)
- 236 Joselow MM, Goldwater LJ, Alvarez A, Herndon J. Absorption and excretion of mercury in man. *Arch Environ Health* 17:39-43 (1968)
- 237 Kalamegham R, Ash KO. A simple ICP-MS procedure for the determination of total mercury in whole blood and urine. *J Clin Lab Anal* 6(4):190-193 (1992).
- 238 Kanerva, L; Komulainen, M; Estlander, T; Jolanki, R. Occupational allergic contact dermatitis from mercury. *Contact Dermatitis* 28: 26-28 (1993).
- 239 Kao CM, Cherng YJ, Wung MH, Tsao PY, Wung MH. Determination of Total Selenium in Human Urine and Serum by Graphite-Furnace Atomic-Absorption Spectrophotometry with Palladium-Nickel-Ammonium Nitrates as Matrix Modifier. *J Chin Chem Soc* 40:33-39 (1993).
- 240 Karin M, Slater EP, Herschman HR. Regulation of metallothionein synthesis in HeLa cells by heavy metals and glucocorticoids. *J cell Physiol* 106:63-74 (1981)
- 241 Kelly TE. Enfermedades de origen genético. En: Kaplan, Pesce. *Química Clínica: Teoría, análisis y correlación*. Ed: Panamericana (1986) (pag 1013-1014)(Cu)
- 242 Kelman GR. Notes and miscellanea: Urinary mercury excretion in dental personnel. *Br J Ind Med* 35:262-265 (1978)
- 243 Kew J, Morris C, Aihie A, Fysh R, Jones S, Brooks D. Arsenic and mercury intoxication due to Indian ethnic remedies. *BMJ* 306(6876):506-507 (1993)
- 244 King JC, Keen CL. Zinc. En: Shils ME, Olson JA, Shike M. *Modern nutrition in health and disease*. Lea & Febiger. Malvern. EE.UU. 8ª Edición (1994) pp 214-230

- 245 King JC. Does poor zinc nutriture retard skeletal growth and mineralization in adolescents? *Ann J Clin Nutr* 64:375-376 (1996)
- 246 Kingman A, Albertini T, Brown LJ. Mercury concentrations in urine and whole blood associated with amalgam exposure in a US military population. *Journal of Dental Research* 77(3):461-471 (1998).
- 247 Kishi R, Doi R, Fukuchi Y, Satoh H, Satoh T, Ono A, Moriwaka F, Tashiro K, Takahata N. Subjective symptoms and neurobehavioral performances of ex-mercury miners at an average of 18 years after the cessation of chronic exposure to mercury vapor. Mercury Workers Study Group. *Environ Res* 62(2):289-302 (1993)
- 248 Klaassen CD, Liu J, Choudhuri S. Metallothionein: An intracellular protein to protect against cadmium toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 39:267-294 (1999)
- 249 Klaassen CD, Liu J. Induction of metallothionein as an adaptive mechanism affecting the magnitude and progression of toxicological injury. *Environmental Health Perspectives* 106(Supplement 1):297-300 (1998).
- 250 Klaassen CD. Metales pesados y sus antagonistas. En: *Las bases farmacológicas de la terapéutica. Goodman&Gilman. 9ª Edición*. 1996. Edit. McGraw-Hill. Interamericana. P 1755-1777.
- 251 Klein R, Herman SP. Methyl-mercury intoxication in rat kidneys. Functional and pathological changes. *Arch Pathol* 96:83 (1973)
- 252 Kok FJ, Van Duijn CM, Hofman A, Van der Voet GB, De Wolff FA, Paays CH, Valkenburg HA. Serum copper and zinc and the risk of death from cancer and cardiovascular disease. *Am J Epidemiol* 128(2):352-359. (1988)
- 253 Kosta L, Byrne AR, Zelenko V. Correlation between selenium and mercury in man following exposure to inorganic mercury. *Nature* 254: 238-239 (1975)
- 254 Kratzer K, Benes P, Spevackova V, Kolihova D, Zilkova J. Determination of chemical forms of mercury in human hair by acid leaching and atomic absorption spectrometry. *J Anal At Spectrom* 9:303-306 (1994)
- 255 Kristiansen J, Christensen JM, Iversen BS, Sabbioni E. Toxic trace element reference levels in blood and urine: influence of gender and lifestyle factors. *Sci Total Environ* 204(2):147-60. (1997)
- 256 Kruse-Jarres JD, Rukgauer M. Trace elements in diabetes mellitus. peculiarities and clinical validity of determinations in blood cells. *J Trace Elements Med Biol* 14:21-27 (2000)
- 257 Ladrón de Guevara J, Moya V. Cobre y sus compuestos. En: *Toxicología Médica. Ladrón de Guevara J, Moya Pueyo V. Editorial Interamericana de España-McGraw-Hill.*(1995) pp 147-149
- 258 Ladrón de Guevara J, Moya Pueyo V. Cinc y sus compuestos. En: *Toxicología Médica. Ladrón de Guevara J, Moya Pueyo V. Editorial Interamericana de España-McGraw-Hill.*(1995) pp 157-160.
- 259 Ladrón de Guevara J, Moya Pueyo V. Mercurio y sus compuestos pp 169-178. En *Toxicología Médica. Ladrón de Guevara J, Moya Pueyo V. Editorial Interamericana de España-McGraw-Hill.*(1995)
- 260 Laitinen J, Liesivuori J, Savolainen H. Urinary NAG and GAG as biomarkers of renal effects in exposure to 2-alkoxyalcohols. *JOEM* 40(7):595-600 (1998)
- 261 Lam JW, McLaren JW. *J Anal Atom Spectrom* 5:419-424 (1990)
- 262 Landrigan PJ, Todd AC, Wedeen RP. Lead poisoning. *The Mount Sinai Journal of Medicine* 62(5):360-364 (1995)

- 263 Langworth S, Elinder CG, Akesson A. Mercury exposure from dental dental fillings. I Mercury concentrations in blood and urine. *Swed Dent J* 12:69-70 (1988)
- 264 Langworth S, Elinder CG, Gothe CJ, Vesterberg O. Biological monitoring of environmental and occupational exposure to mercury. *Int Arch Occup Environ Health* 63:161-167 (1991)
- 265 Langworth S, Elinder CG, Sundquist KG, Vesterberg O. Renal and immunological effects of occupational exposure to inorganic mercury. *British Journal of Industrial Medicine* 49:394-401 (1992)
- 266 Lauwerys R, Bernard A, Roels H, Buchet JP. Cadmium exposure markers as predictors of nephrotoxic effects. *Clin Chem* 40:1391-1394 (1994).
- 267 Lauwerys R, Bonnier CH. Prenatal and early postnatal intoxication by inorganic mercury resulting from the maternal use of mercury containing soap. *Human Toxicology* 6:253 (1987).
- 268 Lauwerys R, Buchet JP, Roels H, Browers J, Stanescu D. Epidemiological survey of workers exposed to cadmium. *Arch environ Health* 28:145-148 (1974)
- 269 Lauwerys RR. Evaluación de la exposición a los agentes químicos en la industria. En: *Toxicología industrial e intoxicaciones profesionales*. Lauwerys RR. Ed Masson. pp 73-95 (1994).
- 270 Lauwerys RR. Principales sustancias inorgánicas y organometálicas: Mercurio. En *Toxicología industrial e intoxicaciones profesionales*. Lauwerys RR. Ed Masson. pp 150-162 (1994).
- 271 Lauwerys RR. Principales sustancias inorgánicas y organometálicas: Plomo. En *Toxicología industrial e intoxicaciones profesionales*. Lauwerys RR. Ed Masson. pp 175-193 (1994).
- 272 Lauwerys RR. Principales sustancias inorgánicas y organometálicas: Selenio. En *Toxicología industrial e intoxicaciones profesionales*. Lauwerys RR. Ed Masson. pp 203-205 (1994)
- 273 Lauwerys RR. Principales sustancias inorgánicas y organometálicas: Cobre pp 141-142. En *Toxicología industrial e intoxicaciones profesionales*. Lauwerys RR. Ed Masson (1994).
- 274 Lavi N, Alfassi ZB. Determination of trace amounts of cadmium, cobalt, chromium, iron, molybdenum, nickel, selenium, titanium, vanadium and zinc by neutron activation analysis. *Analyst* 115:817-822 (1990)
- 275 Lee GR. Factores nutricionales en la producción y función de los eritrocitos. En: *Wintrobe. Hematología Clínica*. Editorial Intermédica. Buenos Aires. 9ª Edición (1994) (pag 153-155)cobre
- 276 Lee R. Anemias hemolíticas adquiridas debidas a los efectos directos de los agentes infecciosos, químicos o físicos. En: *Wintrobe. Hematología Clínica*. Editorial Intermédica. Buenos Aires. 9ª Edición (1995) pp 1048-1049
- 277 Lee SA. Health hazard evaluation report, Cincinnati, Ohio, NIOSH 10 pp. (HETA 83-338-1399) (1984)
- 278 Lehmann P, Henry JB. Unidades SI. En: Henry JB. *Todd-Sanford-Davidsohn. Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio Tomo II 8ª Edición*. Ed Salvat Editores. Barcelona pp 1746-1760 (1988).
- 279 Lewis GP, Jusko WJ, Coughlin LL, Hartz S. Cadmium accumulation in man: influence of smoking, occupation, alcoholic habit and disease. *J Chron Dis* 25:717-726 (1972)
- 280 Liang L, Bloom NS. Determination of total mercury by single satage gold amalgamation with cold vapour atomic spectrometric detection. *J Anal At Spectrom* 8(4):591-594 (1993)

- 281 Liang L, Brooks RJ. Mercury Reactions in the human mouth with dental amalgams. *Water, Air and Soil Pollution* 80:103-107 (1995).
- 282 Liaw KY, Lee PH, Wu FC, Tsai JS, Lin-Shiau SY. Zinc, copper, and superoxide dismutase in hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 92(12):2260-2263 (1997)
- 283 Lind B, Friberg L, Nylander M. Preliminary studies on methylmercury biotransformation and clearance in the brain of primates: II Demethylation of mercury in brain. *J Trace Elements esp Med* 1:49-56 (1988)
- 284 Lindh U, Danersund A, Lindvall A. Selenium protection against toxicity from cadmium and mercury studied at the cellular level. *Cellular and Molecular Biology* 42(1):39-48 (1996).
- 285 Lindstedt G, Gottberg I, Holmgren B, Jonsson T, Karlsson G. Individual mercury exposure of chloralkali workers and its relation to blood and urinary mercury levels. *Scand J Work Environ Health* 5:59-69 (1979)
- 286 Liska SK, Kerkay J, Pearson KH. Determination of copper in whole blood, plasma and serum using Zeeman effect atomic absorption spectroscopy. *Clin Chim Acta* 151:11-19 (1985)
- 287 Litov RE, Combs GF. El selenio en nutrición pediátrica. *Pediatrics (ed. esp.)* 31:159-171 (1991)
- 288 Litovitz T, Schmitz BF. Ingestion of cylindrical and button batteries: an analysis of 2382 cases. *Pediatrics* 89:747-757 (1992)
- 289 Lloyd B, Holt P, Delves HT. Determination of selenium in biological samples by hydride generation and atomic-absorption spectroscopy. *Analyst* 107(1277):927-933 (1982)
- 290 Loguercio C, De Girolamo V, Federico A, Feng SI, Cataldi V, Del Vecchio , Blanco C, Gialanella G. Trace elements and chronic liver diseases. *J Trace Elem Med Biol* 11(3):158-161 (1997)
- 291 Lombeck I, Menzel H, Frosch D. Acute selenium poisoning of a 2-year old child. *Eur J Pediatr* 146:308-312 (1987)
- 292 Lommel A, Kruse H, Muller E, Wassermann O. Organochlorine pesticides, octachlorostyrene, and mercury in the blood of Elb River residents, Germany. *Arch Environ Contam Toxicol* 22(1):14-20 (1992)
- 293 Long GL y Winefordner JD. Limit of Detection. *Anal Chem* 55(7):A712 (1983)
- 294 Lonnerdal B. Dietary factors influencing zinc absorption. *J Nutr* 130(5S Suppl):1378S-1383S (2000)
- 295 Lopera Pérez AM, Giraldo Sepúlveda OL, Blandón SMV, Muñoz SOL, Solano Cumplido MC, Serna Agudelo MP, Quiceno Villegas FL, Gallego Pulgarin MI. Intoxicación con mercurio en personal odontológico, usuarios de cremas cosméticas (Medellín-Colombia). *Rev Toxicol* 17:75-78 (2000)
- 296 López Artíguez M, Repetto M. Estado actual de la toxicología del cadmio. En: *Toxicología avanzada*. Repetto M. Ediciones Díaz de Santos S.A.. Madrid 1995.
- 297 López Colón JL, Veiga D, Montel A, De Pradena JM, Lozano R. Determination of mercury in blood by cold vapour. *Atomic Spectroscopy* 22(2):284-289 (2001)
- 298 López-Colón JL, De Pradena JM, Álvarez Bustamante G, Hoya T, Montel A. Análisis de selenio por espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica. En: *Selenio: Conocimiento actual y situación en España*. Editorial MAPFRE (2003)
- 299 Lorscheider FL, Vimy MJ, Summers AO, Zwiers H. The dental amalgam mercury controversy—inorganic mercury and the CNS; genetic linkage of mercury and antibiotic resistances in intestinal bacteria. *Toxicology* 97:19-22 (1995).

- 300 Lorscheider FL, Vimy MJ, Summers AO. Mercury exposure from "silver" tooth fillings: emerging evidence questions a traditional dental paradigm. *Faseb J* 9:504-508 (1995).
- 301 Mackert JR Jr. Factors affecting estimation of dental amalgam mercury exposure from measurements of mercury vapor levels in intra-oral and expired air. *J Dent Res* 66(12):1775-1780 (1987)
- 302 Maffulli V, De Luca U. A new direct colorimetric method for the determination of zinc in biological fluids without deproteinisation of the sample. *Eur Clin Lab December*: 38 (1992)
- 303 Magarey JA. Absorption of mercurochrome. *Lancet* 342(8884):1424-1424 (1993)
- 304 Magos L, Butler WH. The kinetics of methylmercury administered repeatedly to rats. *Arch Toxicol* 35(1):25-39 (1976)
- 305 Magos L, Halbach S, Clarkson TW. Role of catalase in oxidation of mercury vapour. *Biochem Pharmacol* 27:1373-1377 (1978)
- 306 Magos L. Selective atomic-absorption determination of inorganic mercury and methylmercury in undigested biological samples. *Analyst* 96:847-853 (1971).
- 307 Magos L. The effects of dimercaptosuccinic acid on the excretion and distribution of mercury in rats and mice treated with mercuric chloride and methylmercury chloride. *Br J Pharmacol* 56(4): 479-484 (1976)
- 308 Mahaffey KR, Mergler D. Blood levels of total and organic mercury in residents of the upper St. Lawrence River basin, Québec: association with age, gender and fish consumption. *Environ Res* 77(2):104-114 (1998)
- 309 Mansouri AS, Halsted SA, Gombos EA. Zinc, copper, magnesium and calcium in dialyzed and non dialyzed uremic patients. *Arch Int Med* 125:88-93 (1970)
- 310 Maret W. The function of zinc metallothionein: a link between cellular zinc and redox state. *J Nutr* 130(5S Suppl):1455S-1458S (2000).
- 311 Margel S, Hirsh J. Reduction of organic mercury in water, urine and blood by sodium borohydride for direct determination of total mercury content. *Clin Chem* 30:243-245 (1984)
- 312 Margoshes M, Vallee BL. A cadmium kidney protein from equine kidney cortex. *J Am Chem Soc* 79:4813-4814 (1957)
- 313 Marqués Marqués F. *Plomo: Criterios toxicológicos actuales para la vigilancia médica de trabajadores expuestos*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Madrid (1993)
- 314 Martínez C, Gil M, Rodríguez M, García E. Intoxicación subclínica por mercurio metálico. ¿Qué técnicas diagnósticas son útiles? *Rev Clin Esp* 73: 163 (1991)
- 315 Mason RP, Fitzgerald WF, Morel MM. The biogeochemical cycling of elemental mercury: anthropogenic influences. *Geochim Cosmochim Acta* 58.:3191-3198 (1994)
- 316 Mattiussi R, Armeli G, Bareggi V. Statistical study of the correlation between mercury exposure (TWA) and urinary mercury concentrations in chloralkali workers. *Am J Ind Med* 3(3):335-9 (1982)
- 317 Mazarrasa Mocwinkel O, Dueñas Molina C, Arce Recio R, Arribas Jimeno S. Consideraciones sobre las relaciones entre las concentraciones de mercurio en aire y fluidos biológicos en trabajadores expuestos a este metal. *Medicina y Seguridad del Trabajo* 121:13-20 (1984).
- 318 Mazarrasa Mocwinkel O. Valores de mercurio en sangre y orina e investigación de microalbuminuria en trabajadores expuestos a mercurio elemental. I Conferencia Nacional de Higiene Industrial. Sección Española de la American Industrial Hygiene Association. Sesión de comunicación SC/5 (6). pp. 1115-1128. (1985)

- 319 McClain C, Soutor C, Zreve L. Zinc deficiency: a complication of Crohn's disease. *Gastroenterology* 78:272-279 (1980)
- 320 McFarland RBCronic mercury poisoning from a single brief exposure *Journal of Occupational Medicine* 20:532-534 (1978)
- 321 McLauchlan GA. Acute mercury poisoning. *Anaesthesia* 46:110-2 (1991)
- 322 McRill C, Boyer LV, Flood TJ, Ortega L. Mercury toxicity due to use of a cosmetic cream. *J Occup Environ Med* 42(1):4-7 (2000)
- 323 Menditto A, Morisi G, Alimonti A, Caroli S, Petrucci F, Spagnolo A, Menotti A. Association of serum copper and zinc with serum electrolytes and with selected risk factors for cardiovascular disease in men aged 55-75 years. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 7(4):251-253 (1993)
- 324 Merler E, Boffetta P, Masala G, Monechi V, Bani F. A cohort study of workers compensated for mercury intoxication following employment in the fur hat industry. *J Occup Med* 36(11):1260-1264 (1994)
- 325 Mestek O, Suchanek M, Vodickova Z, Zemanova B, Zima T. *J Anal Atom Spectrom* 12:85-90 (1997)
- 326 Miller DT, Paschal DC, Gunther EW, Stroud PE, D'Angelo J. Determination of lead in blood using electrothermal atomisation atomic absorption spectrometry with a L'vov platform and matrix modifier. *Analyst* 112(12):1701-1704 (1987)
- 327 Miller GD, Massaro TF, Massaro EJ. Interactions between lead and essential elements: a review. *Neurotoxicology* 11(1):99-119 (1990)
- 328 Mills CF, Dalgarno AC. Copper and zinc status of ewes and lambs receiving increased dietary concentrations of cadmium. *Nature* 239(5368):171-173 (1972)
- 329 Milman N, Christensen JM, Holst E, Kirchhoff M. Blood lead levels in residents in Copenhagen County 1983. *Trace Elem Med* 7(4):169-172 (1990)
- 330 Molin M, Bergman B, Marklund SL, Schütz A. Mercury, selenium and glutathione peroxidase before and after amalgam removal in man. *Acta Odontol Scand* 48(3):189-202 (1990).
- 331 Molin M, Schütz A, Skerfving S, Sallsten G. Mobilized mercury in subjects with varying exposure to elemental mercury vapour. *Occupational and Environmental Health* 63:187-192 (1991).
- 332 Monreal I, Riaño M. Zinc. En: Cocho JA, Escanero JF, González de Buitrago JM. Elementos Trazas: aspectos bioquímicos, analíticos y clínicos. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (1998) pag 167-193
- 333 Monreal JI, Rivero A. Análisis de elementos traza. Campos de aplicación clínica. En: AEFA. Actualidades en el laboratorio clínico. Ed Garsi. Madrid. (1993) pp 35-42
- 334 Montel A. De Prádena JM, Álvarez Bustamante G, Hoya T, López Colón JL. Determinación de selenio en suero y sangre total utilizando espectroscopía de absorción atómica electro térmica con corrección de fondo por efecto Zeeman. En: *Selenio: Conocimiento actual y situación en España*. Editorial MAPFRE (2003)
- 335 Montero Barrientos MT. Espectroscopía de absorción atómica. En: Valls O, Del Castillo B. *Técnicas Instrumentales en Farmacia y Ciencias de la Salud*. Ed. Piros (1998)
- 336 Moreira MFR, Curtius AJ, Campos RC. Determination of cadmium in whole blood and urine by electrothermal atomic absorption spectrometry using palladium-based modifiers and in situ decontamination. *Analyst* 120:947-950 (1995)
- 337 Moreno MA, Marin C, Vinagre F, Ostapczuk P. Trace element levels in whole blood samples from residents of the city Badajoz, Spain. *Sci Total Environ*. 229(3):209-215 (1999)

- 338 Morgan MS. The biological exposure indices: a key component in protecting workers from toxic chemicals. *Environ Health Perspect* 10(suppl 1):105-115 (1997)
- 339 Morisi G, Menotti A, Patriarca M. Improved Determination of Selenium in Serum by Zeeman Atomic-Absorption Spectrometry. *Clin Chem* 34(1):127-130 (1988).
- 340 Moszczynski P. Mercury compounds and the immune system: a review. *Int J Occup Med Environ Health* 10(3):247-258 (1997).
- 341 Mueller EJ, Seger DL. Metal fume fever - a review. *J Emerg Med* 2:271-274 (1985)
- 342 Nakamura T, Higashi A, Nishiyama S, Fujimoto S, Matsuda Y. Kinetics of zinc status in children with IDDM. *Diabetes Care* 14:553-557 (1991)
- 343 Naleway C, Sakaguchi R, Mitchell E, Muller T, Ayer WA, Hefferren JJ. Urinary mercury levels in US dentists, 1975-1983: Review of Health Assessment Program. *J Am Dent Assoc* 111:37-42 (1985)
- 344 Navarro Alarcón M, López García de la Serrana H, Perez Valero V, López Martínez C. Serum and urine selenium concentrations in patients with cardiovascular diseases and relationship to other nutritional indexes. *Annals of Nutrition & Metabolism* 43(1):30-36 (1999).
- 345 Neve J, Molle L. Direct Determination of Selenium in Human-Serum by Graphite-Furnace Atomic-Absorption Spectroscopy: Improvements due to Oxygen Ashing in Graphite Tube and Zeeman Effect Background Correction. *Acta Pharmacol Toxicol* 59:606-609 (1986).
- 346 Neve J, Vertongen F, Capel P. Selenium supplementation in healthy Belgian adults: response in platelet glutathione peroxidase activity and other blood indices. *Am J Clin Nutr* 48(1):139-143 (1988)
- 347 Neve J, Vertongen F, Molle L. Selenium deficiency. *Clin Endocrinol Metab* 14:629-651 (1985)
- 348 Neve J, Vertongen F. Zinc, copper, iron and lead status in humans following sixty days of selenium supplementation. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 2:49-51 (1988)
- 349 Newton D, Fry FA. The retention and distribution of radioactive mercuric oxide following accidental inhalation. *Ann occup Hyg* 21:21-32 (1978).
- 350 Nilsson B, Nilsson B. Mercury in dental practice I. The working environment of dental personnel and their exposure to mercury vapor. *Swed dent J* 10:1-14 (1986)
- 351 Nilsson B, Nilsson B. Mercury in dental practice II. Urinary mercury excretion in dental personnel. *Swed dent J* 10:221-232 (1986)
- 352 NIOSH. Documentation for Immediately Dangerous to Life or Health Concentrations (IDLHs). <http://www.cdc.gov/niosh/idlh/intridl4.html>. Última revisión 1 marzo 1995.
- 353 Nir A, Tamir A, Zelnik N, Ianct TC. Is eye cosmetic a source of lead poisoning?". *J Med Sci* 28 (7):417-421 (1992)
- 354 Nixon DE, Mussmann GV, Moyer TP. Inorganic, organic and total mercury in blood and urine: cold vapor analysis with automated flow injection sample delivery. *J Anal Toxicol* 20(1):17-22 (1996).
- 355 Nixon GS, Whittle CA, Woodfin A. Mercury levels in dental surgeries and dental personnel. *Br Dent J* 151:149-154 (1981)
- 356 Nordberg G, Nordberg M. Biological monitoring of cadmium. En: Clarkson T, Friberg G, Nordberg G, Sager PR. *Biological monitoring of toxic metals*. New York. Plenum Press (1988)
- 357 Nordberg GF. Cadmium metabolism and toxicity. *Environ Physiol Biochem* 1:171-187 (1972)

- 358 Nordberg GF. General aspects of cadmium transport, uptake, and metabolism by the kidney. *Environ Health Perspect* 54:13-20 (1984)
- 359 Nordberg M, Nordberg GF. Toxicological aspects of metallothionein. *Cellular and Molecular Biology* 46(2):451-463 (2000).
- 360 Norseth T, Clarkson TW. Intestinal transport of ^{203}Hg labeled methyl mercury chloride. Role of biotransformation in rats. *Arch Environ Health* 22:668-677 (1971)
- 361 Nylander M, Friberg L, Eggleston D, Björkman L. Mercury accumulation in tissues from dental staff and controls in relation to exposure. *Swed dent J* 13:235-243 (1989)
- 362 Nylander M. Mercury in pituitary glands of dentists. *Lancet* 1(8478):442 (1986)
- 363 Nylander N, Friberg L, Lind B. Mercury concentrations in the human brain and kidneys in relation to exposure from dental amalgam fillings. *Swed Dent J* 11(5):179-187 (1987)
- 364 O'Dell JR, Lemley-Gillespie S, Palmer WR, Weaver AL, Moore GF, Klassen LW. Serum selenium concentrations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 50:376-378 (1991)
- 365 O'Halloran TV. Transition metals in control of gene expression. *Science* 261:715-725 (1993)
- 366 Occupational Safety & Health Administration (OSHA). Chemical Sampling Information Mercury (Aryl and Inorganic)(as Hg). Occupational Safety & Health Administration. US Department of Labor. http://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_250496.html. Última actualización 11 enero 1999
- 367 Occupational Safety & Health Administration (OSHA). Chemical Sampling Information Mercury (organo) Alkyl Compounds (as Hg). Occupational Safety & Health Administration. US Department of Labor. http://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_250500.html. Última actualización 15 enero 1993
- 368 Occupational Safety & Health Administration (OSHA). Chemical Sampling Information Mercury (Vapor)(as Hg). Occupational Safety & Health Administration. US Department of Labor. http://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_250510.html. Última actualización 14 enero 2002
- 369 Occupational Safety & Health Administration (OSHA). US Department of Labor. OSHA Regulations, Standards - 29CFR, Nonmandatory Protocol for Biological Monitoring 1910.1027 App F (1992). http://www.osha-slc.gov/OshStd_data/1910_APP_F.html. Última actualización 21 septiembre de 2000.
- 370 Occupational Safety & Health Administration (OSHA). US Department of Labor. Occupational Safety and Health Guideline for Mercury Vapor (1996) <http://www.osha.gov/SLTC/healthguidelines/mercuryvapor/recognition.html>
- 371 Occupational Safety & Health Administration (OSHA). US Department of Labor. Analytical method ID-140 Mercury vapor in workplace atmospheres (1991) <http://www.osha.gov/dts/sltc/methods/inorganic/id140/id140.html>
- 372 Ohsawa M, Magos L. The chemical form of methylmercury complex in rat bile. *Biochem Pharmacol* 23:1903-1906 (1974)
- 373 Okada A, Takagi J, Nezu R, Sando K, Shenkin A. Trace element metabolism in parenteral and enteral nutrition. *Nutrition* 11:106-113 (1995).
- 374 Oldfield JE. *Selenium world atlas*. Ed. Selenium-Tellurium Development Association (STDA). Grimbergen. Belgium (1999)
- 375 Olsson S, Bergman M. Letter to the editor. *J Dent Res* 66:1288-1289 (1987)
- 376 Olstad ML, Holland RJ, Wandel N, Hensten Pettersen A. Correlation between amalgam restorations and mercury concentrations in urine. *J Dent Res* 66:1179-82 (1987)

- 377 Omae K, Takebayashi T, Sakurai H. Occupational exposure limits based on biological monitoring: the Japan Society for Occupational Health. *Int Arch Occup Environ Health* 72:271-273 (1999)
- 378 OMS. *Cadmium. Environmental Health Criteria 134*. Ginebra. Organización Mundial de la Salud. (1992)
- 379 OMS. *Copper. Environmental Health Criteria 200*. Ginebra. Organización Mundial de la Salud. (1998)
- 380 OMS. *Inorganic Lead. Environmental Health Criteria 165*. Ginebra. Organización Mundial de la Salud. (1995)
- 381 OMS. *Inorganic Mercury. Environmental Health Criteria 118*. Ginebra. Organización Mundial de la Salud. (1991)
- 382 OMS. *Mercury. Environmental Health Criteria 1*. Ginebra. Organización Mundial de la Salud (1976)
- 383 OMS. *Methylmercury. Environmental Health Criteria 101*. Ginebra. Organización Mundial de la Salud. 1990
- 384 OMS. Selenium. En: *Aspects sanitaires et nutritionnels des oligoelements et des elements en traces*. Ginebra. Organización Mundial de la Salud. 1997. (pp 105-122)
- 385 OMS. *Selenium. Environmental Health Criteria 58*. Ginebra. Organización Mundial de la Salud. (1987)
- 386 OMS. Zinc. En: *Aspects sanitaires et nutritionnels des oligoelements et des elements en traces*. Ginebra. Organización Mundial de la Salud. 1997. (pp 72-104)
- 387 Orden 9.4.1986. Reglamento para la prevención de riesgos y protección de la salud de los trabajadores por la presencia de plomo metálico y sus compuestos iónicos en el ambiente de trabajo. BOE 24 de abril de 1986.
- 388 Oskarsson A, Hallen IP, Sundberg J. Exposure to toxic elements via breast milk. *Analyst* 120(3):765-770 (1995).
- 389 Osman K, Schütz A, Akesson B, Maciag A, Vahter M. Interactions between essential and toxic elements in lead exposed children in Katowice, Poland. *Clinical Biochemistry* 31(8):657- 665 (1998).
- 390 Oster O, Prellwitz W. Selenium and cardiovascular disease. *Biol Trace Elem Res.* 24(2):91-103 (1990).
- 391 Oster O, Prellwitz W. The renal excretion of selenium. *Biol Trace Elem Res.* 24(2):119-46. (1990)
- 392 Palheta D, Taylor A. Mercury in environmental and biological samples from a gold mining area in the Amazon region of Brazil. *Sci Total Environ* 168(1):63-69 (1995).
- 393 Panel on Dietary Antioxidants and related compounds. Food and Nutrition Board. Institute of Medicine USA. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and carotenoids. National Academy Press. Washington DC (2000)
- 394 Paschal DC, Kimberly MM. Automated direct determination of selenium in serum by electrothermal atomic absorption spectrometry. *At Spectrosc* 7:75-78 (1986).
- 395 Patterson JE, Weissberg BG, Dennison PJ. Mercury in human breath from dental amalgams. *Bull environ contam toxicol* 34:459-468 (1985)
- 396 Peraza MA, Ayala-Fierro F, Barber DS, Casarez E, Rael LT. Effects of micronutrients on metal toxicity. *Environmental Health Perspectives* 106(suppl 1): 203-216 (1998).
- 397 Peretz A, Neve J, Famaey JP. Effects of chronic and acute corticosteroid therapy on zinc and copper status in rheumatoid arthritis patients. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 3(2):103-8 (1989)

- 398 Perkin Elmer Instruments. ELAN 6100 DRC hardware guide 017228B. Perkin Elmer (2000)
- 399 Perkin Elmer. *The guide to techniques and applications of atomic spectroscopy*. Ed. Perkin Elmer Corporation. Norwalk. USA (1997)
- 400 Pesce AJ, Kaplan LA. Apéndices. En: Pesce AJ, Kaplan LA. *Química Clínica Métodos*. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires. 1990
- 401 Pesce AJ. Alteraciones de los electrolitos. En: Pesce AJ, Kaplan LA. *Química Clínica Métodos*. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires. 1990
- 402 Pineau A, Piron M, Boiteau HL, Etourneau MJ, Guillard O. Determination of total mercury in human hair samples by cold vapor atomic absorption spectrometry. *J Anal Toxicol* 14(4):235-8 (1990)
- 403 Piotrowski J, Trojanowska B, Mozilnicka EM. Excretion kinetics and variability of urinary mercury in workers exposed to mercury vapor. *Int Arch Occup Environ Health* 35:245-256 (1975)
- 404 Pirkle JL, Kaufmann RB, Brody DJ, Hickman T, Gunter EW, Paschal DC. Exposure of the US population to lead, 1991-1994. *Environmental Health Perspectives* 106(11):745-750 (1998).
- 405 Pleban PA, Pearson KH. Determination of cadmium in whole blood and urine by Zeeman atomic absorption spectrometry. *Clin Chim Acta* 99:267-277 (1979)
- 406 Pohl B, Grund A, Knowles M. Selenium Determination in Blood with Atomic-Absorption Spectrometry (AAS) using Zeeman Background Correction and Palladium Ascorbic-Acid Chemical Modification. *Fresenius' Z Anal Chem* 327(1):20-21 (1987).
- 407 Potter S, Matrone G. Effect of selenite on the toxicity of dietary methyl mercury and mercuric chloride in the rat. *J Nutr* 104(5):638-647 (1974)
- 408 Poulsen OM, Christensen JM, Sabbioni E, Van der Venne MT. Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European Community. V. Review of trace elements in blood, serum and urine and critical evaluation of reference values for the Danish population. *Sci Total Environ* 141(1-3):197-215. (1994)
- 409 Powell SR. The antioxidant properties of zinc. *J Nutr* 130(5S Suppl):1447S-1454S (2000)
- 410 Prasad AS. Clinical and biochemical manifestations of zinc deficiency in human subjects. *J Am Coll Nutr* 4:65-72 (1985)
- 411 Price y Wisseman. *Hazard evaluation and technical assistance report*, Cincinnati, Ohio, NIOSH 17 pp (TA 77-52) (1977)
- 412 Que Hee SS, MacDonald TJ, Bornschein RL. Blood lead by furnace-Zeeman atomic absorption spectrophotometry. *Microchem J* 32: 55-63 (1985)
- 413 Quer-Brossa S. *Toxicología Industrial*. Salvat Editores S.A. Barcelona (1983)
- 414 Quinn MJ. Factors affecting blood lead concentrations in the UK: results of the EEC blood lead surveys, 1979-1981. *Int J Epidemiol* 14(3):420-431 (1985)
- 415 Rabinowitz M, Wetherill GW, Koppel JD. Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans. *J Clin Invest* 58:260-270 (1977)
- 416 Rademeyer CJ, Radziuk B, Romanova N, Skaugset NP, Skogstad A, Tomasén Y. *J. Anal At Spectrom* 10:739 (1995)
- 417 Rademeyer, CJ. Temperature: Its Significance, Control and Measurement. En K.J. Jackson. *Electrothermal Atomization for Analytical Atomic Spectrometry*. John Wiley & Sons Ltd. Chichester, England 1999.

- 418 Rahil-Khazen R, Bolann BJ, Ulvik RJ. Correlations of trace element levels within and between different normal autopsy tissues analyzed by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES). *Biometals* 15(1):87-98 (2002)
- 419 Rahil-Khazen R, Bolann BJ, Ulvik RJ. Trace element reference values in serum determined by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Clin Chem Lab Med*. 2000 Aug;38(8):765-772.
- 420 Ramadurai J, Shapiro C, Kozloff M, Telfer M. Zinc abuse and sideroblastic anemia. *Am J Hematol* 42:227-228 (1993)
- 421 Rayman MP. The importance of selenium to human health. *The Lancet* 356:233-241 (2000)
- 422 Real Decreto 374/2001, de 6 de abril sobre la protección de la salud y seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo. BOE núm 104 de 1 de mayo de 2001.
- 423 Refsvik T, Norseth T. Methylmercury compounds in rat bile. *Acta pharmacol Toxicol* 36:67-78 (1975)
- 424 Reinhard JW. Side effects: mercury contribution to body burden from dental amalgam. *Adv Dent Res* 6:110-113 (1992)
- 425 Reinhardt JW, Kai, Chiu Chan, Schulein TM. Mercury vaporization during amalgam removal. *J Prosthet Dent* 50(1):62-64 (1983)
- 426 Report of an International Committee. Maximum allowable concentrations of mercury compounds. *Arch Environ Health* 19: 891 (1969)
- 427 Richards JM, Warren PJ. Mercury vapor released during the removal of old amalgam restorations. *Br Dent J* 159:231-232 (1985)
- 428 Ripa P, Ripa R. Zinc and the elderly. *Minerva Med* 86:275-278 (1995)
- 429 Ritz B, Heinrich J, Wjst M, Wichmann E, Krause C. Effect of cadmium body burden on immune response of school children. *Archives of Environmental Health* 53(4):272-280 (1998)
- 430 Rodríguez E, Díaz C. Iron, Copper and Zinc levels in urine: Relationship to various individual factors. *J Trace Elements Med Biol*. 9:200-209 (1995)
- 431 Rodushkin I, Odman F. Application of inductively coupled plasma sector field mass spectrometry for elemental analysis of urine. *J Trace Elem Med Biol* 14:241-247 (2001)
- 432 Rodushkin I, Odman F. Assessment of the contamination from devices used for sampling and storage of whole blood and serum for element analysis. *J Trace Elem Med Biol* 15:40-45 (2001)
- 433 Roels H, Abdeladim S, Ceulemans E, Lauwerys R. Relationships between the concentrations of mercury in air and in blood or urine in workers exposed to mercury vapour. *Ann occup Hyg* 31(2):135-145 (1987)
- 434 Roels H, Boeckx M, Ceulemans E, Lauwerys RR. Urinary excretion of mercury after occupational exposure to mercury vapour and influence of the chelating agent meso-2,3-dimercaptosuccinic acid (DMSA). *Br J Ind Med* 48:247-253 (1991)
- 435 Roels H, Gennart JP, Lauwerys R, Buchet JP, Malchaire J, Bernard A. Surveillance of workers exposed to mercury vapour: validation of a previously proposed biological threshold limit value for mercury concentration in urine. *Am J Ind Med* 7(1):45-71 (1985)
- 436 Roels H, Lauwerys R, Buchet JP, Bernard A, Garvey JS, Linton HJ. Significance of urinary metallothionein in workers exposed to cadmium. *Int Arch occup environ Health* 52:159-166 (1983)
- 437 Rojas D, Sánchez MA, Olivares W. *Spectrochim Acta Part B* 52B:1269-1281 (1997)

- 438 Rowland IR, Davies MJ, Evans JG. Tissue content of mercury in rats given methylmercuric chloride orally: influence of intestinal flora. *Arch Environ Health* 35: 155-160 (1980)
- 439 Rowland IR, Robinson RD, Doherty RA, Landry TD. Effects of diets on mercury metabolism and excretion in mice given methylmercury: role of gut flora. *Arch Environ Health* 39:401-418 (1984)
- 440 Rukgauer M, Klein J, Kruse-Jarres JD. Reference values for the trace elements copper, manganese, selenium, and zinc in the serum/plasma of children, adolescents, and adults. *J Trace Elem Med Biol* 11(2):92-98. (1997)
- 441 Rukgauer M, Neugebauer RJ, Plecko T. The relation between selenium, zinc and copper concentration and the trace element dependent antioxidative status. *J Trace Elem Med Biol.* 15:73-78 (2001)
- 442 Sabé R, Rubio R, García-Beltrán L. Determination of selenium in human blood specimens by electrothermal atomic absorption. *Analítica Chimica Acta* 419:121-135 (2000)
- 443 Sabé R, Rubio R, García-Beltrán L. Study and comparison of several chemical modifiers for selenium determination in human serum by Zeeman electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 398:279-287 (1999)
- 444 Salgueiro J, Zubillaga M, Lysionek A, Sarabia MI, Calmanovici G, Caro R, De Paoli T, Hager A, Weill R, Boccio J. Zinc: concepts on an essential micronutrient. *Acat Physiol Pharmacol Ther Latinoam* 49(1):1-12 (1999)
- 445 Sallsten G, Barregard L, Langworth S, Vesterberg O. Exposure to mercury in industry and dentistry: a field comparison between diffusive and active samplers. *Appl Occup Environ Hyg* 7(7):434-440 (1992).
- 446 Sallsten G, Barregard L, Schutz A. Decrease in mercury concentration in blood after long term exposure: a kinetic study of chloralkali workers. *British Journal of Industrial Medicine* 50:814-821 (1993).
- 447 Sallsten G, Barregard L. Urinary excretion of mercury, copper and zinc in subjects exposed to mercury vapour. *Biometals* 10(4):357-361 (1997).
- 448 Sallsten G, Thorén J, Barregard L, Schütz A, Skarping G. Long-term use of nicotine chewing gum and mercury exposure from dental amalgam fillings. *J Dent Res* 75(1):594-598 (1996).
- 449 Salmela S, Vuori E. Contamination with cadmium from micropipette tips. *Talanta* 26: 175-176 (1979)
- 451 Sandborgh-Englund G, Bjorkman L, Bjorkman L, Valtersson C. Determination of low levels of total mercury in blood and plasma by cold vapour atomic fluorescence spectrometry. *Scand J Clin Lab Invest* 58(2):155-160 (1998).
- 450 Sandborgh-Englund G, Elinder CG, Johanson G, Lind B, Skare I, Ekstrand J. The absorption, blood levels and excretion of mercury after a single dose. *Toxicol Appl Pharmacol* 150(1):146-153 (1998).
- 452 Sandborgh-Englund G, Elinder CG, Langworth S, Schutz A, Ekstrand J. Mercury in biological fluids after amalgam removal. *J Dent Res* 77(4):615-624 (1998).
- 453 Sanz Alaejos M, Díaz Romero C. Analysis of selenium in body fluids: a review. *Chem Rev* 95: 227-257 (1995)
- 454 Sanz Alaejos M, Díaz Romero C. Urinary selenium concentrations. *Clin Chem* 39:2040-2052 (1993)
- 455 Satarug S, Haswell-Elkins MR, Moore MR. Safe levels of cadmium intake to prevent renal toxicity in human subjects. *British Journal of Nutrition* 84:791-802 (2000).

- 456 Satoh H. Occupational and environmental toxicology of mercury and its compounds. *Ind Health* 38(2):153-164 (2000)
- 457 Scheinberg IH. Enfermedad de Wilson. En: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. *Harrison: Principios de Medicina Interna 14ª Edición*. Ed. McGraw-Hill B Interamericana de España (1998)
- 458 Schellman B, Raithel HJ, Schaller KH. Acute fatal selenium poisoning. Toxicological and occupational medical aspects. *Arch Toxicol* 59:61-63 (1986)
- 459 Schlemmer G, Welz B. Palladium and magnesium nitrates, a more universal modifier for graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochim Acta* 41B:1157-1165 (1987)
- 460 Schlemmer G. Graphite furnace AAS for complex samples: Detection limits, precision, long-term stability. *Atomic Spectroscopy* 17(1):15-21 (1996)
- 461 Schmit JP, Youla M, Gélina Y. Multi-element analysis of biological tissues by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 249:495-501 (1991).
- 462 Schneider M. An environmental study of mercury contamination in dental offices. *J Am Dent Assoc* 89(5):1092-1098 (1974)
- 463 Schrauzer GN. Selenium. Mechanistic aspects of anticarcinogenic action. *Biol Trace Elem Res* 33:51-62 (1992)
- 464 Schroeder HA, Nason AO. Trace-element analysis in Clinical Chemistry. *Clin Chem* 17:461-474 (1971)
- 465 Schuhmacher M, Domingo JL, Corbella J. Zinc and copper levels in serum and urine: relationship to biological, habitual and environmental factors. *Sci Total Environ* 148(1):67-72 (1994)
- 466 Schuhmacher M, Domingo JL, Llobet JM, Corbella J. Variability of blood lead levels in an urban population in relation to drinking and smoking habits. *Sci Total Environ* 138(1-3):23-29 (1993)
- 467 Seaton A, Bishop CM. Acute mercury pneumonitis. *Br J Ind Med* 35:258-265 (1978)
- 468 Seijas V. Selenio. En: *Análisis de Elementos traza: aspectos bioquímicos, analíticos y clínicos*. Cocho JA, Escanero JF, González de Buitrago JM. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular 1998. Pp 415-435
- 469 Shandar A, Simson RE. Occupational exposure to inorganic mercury -a review of medical surveillance experience over a ten-year period. *Med J Aust* 2(20):1005-1008 (1971)
- 470 Shaw W. The Zeeman effect in furnace AA. En: *Analytical methods for graphite tube atomizers*. Ed. Varian Australia Pty Ltd, Mulgrave, Victoria, Australia (1988)
- 471 Sheehan TMT, Halls DJ. Measurement of selenium in clinical specimens. *Ann Clin Biochem* 36:301-315 (1999)
- 472 Sheerin NS, Monk PN, Aslam M, Thurston H. Simultaneous exposure to lead, arsenic and mercury from Indian ethnic remedies. *Br J Clin Pract* 48(6):332-333 (1994)
- 473 Shenkin A. Trace elements and inflammatory response: implications for nutritional support. *Nutrition* 11:100-105 (1995)
- 474 Shils ME. Parenteral Nutrition. En: Shils ME, Olson JA, Shike M. *Modern nutrition in health and disease*. Lea & Febiger. Malvern.EE.UU. 80 Edición (1994) pp 1443-1447
- 475 Shuttler IL, Delves HT. Determination of lead in blood by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomisation. *Analyst* 111(6):651-656 (1986).

- 476 Sierra López A, Hardisson de la Torre A. Contaminación química de los alimentos. Aditivos alimentarios. En: *Medicina Preventiva y Salud Pública*. Piédrola Gil G y cols. Ediciones Científicas y Técnicas SA. Barcelona. 10ª Edición 2001.
- 477 Silbergeld EK, Schwartz J, Mahaffey KR. Lead and osteoporosis: mobilization of lead from bone. *Environ Res* 47(1):79-94 (1988)
- 478 Silbergeld EK. Lead in bone: implications for toxicology during pregnancy and lactation. *Environ Health Perspect* 91:63-70 (1991)
- 479 Simon SR, Branda RF, Tindle BF, Burns SL. Copper deficiency and sideroblastic anemia associated with zinc ingestion. *Am J Hematol* 28:181-183 (1988)
- 480 Skare I, Engqvist A. Human exposure to mercury and silver released from dental amalgam restorations. *Archives of Environmental Health* 49:384-394 (1994)
- 481 Skare I, Engqvist A. Urinary mercury clearance of dental personnel after a long term intermission in occupational exposure. *Swed Dent J* 14:255-259 (1990)
- 482 Skare I. Microdetermination of mercury in biological samples. Part III Automated determination of mercury in urine, fish and blood samples. *Analyst* 97:148-155 (1972)
- 483 Skerfving S. Heavy metal toxicology. *Appl Radiat Isot* 49(5- 6):697 (1998)
- 484 Skoczynska A, Smolik R, Milian A.. The effect of combined exposure to lead and cadmium on the concentration of zinc and copper in rat tissues. *Int J Occup Med Environ Health* 7(1):41-49 (1994)
- 485 Skoner JR, Wallace JA, Fochtman F, Moore PA, Zullo T, Hoffman D. Blood mercury levels with amalgam retroseals: a longitudinal study. *J Endod* 22(3):140-141 (1996)
- 486 Skoog DA, Leary JJ. Espectrometría de masas. En: Skoog DA, Leary JJ. *Análisis Instrumental 4ª Edición*. McGraw-Hill/Interamericana de España SA (1993) pp 491-537
- 487 Skoog DA, Leary JJ. Espectroscopía de emisión basada en la atomización con plasma, arco o chispa. En: Skoog DA, Leary JJ. *Análisis Instrumental 4ª Edición*. McGraw-Hill/Interamericana de España SA (1993) pp 272-295
- 488 Skoog DA, Leary JJ. Espectroscopía de emisión basada en la atomización con llama y electrotérmica. En: Skoog DA, Leary JJ. *Análisis Instrumental 4ª Edición*. McGraw-Hill/Interamericana de España SA (1993) pp 227-271
- 489 Skoog DA, Leary JJ. Métodos radioquímicos. En: Skoog DA, Leary JJ. *Análisis Instrumental 4ª Edición*. McGraw-Hill/Interamericana de España SA (1993) pp 470-490
- 490 Skuba ARN. Survey for mercury vapour in Manitoba dental offices. *Can Dent Assoc J* 7:517-522 (1984)
- 491 Slavin W, Carnrick GR, Manning DC, Pruszkowska E. Recent experiences with the stabilized temperature platform furnace and Zeeman background correction. *Atomic Spectroscopy* 4:69-86 (1983)
- 492 Slavin W, D.C. Manning DC, Carnrick GR. The stabilized temperature platform furnace. *At Spectrosc* 2(5):137-145 (1981)
- 493 Slavin W. Graphite furnace AAS for biological materials. *The Science of the Total Environment* 71:17-35 (1988)
- 494 Smith RG, Vorwald AJ, Patil LS, Mooney TF Jr. Effects of exposure to mercury in the manufacture of chlorine. *Am Ind Hyg Assoc J* 31(6):687-700 (1970)
- 495 Snapp KR, Boyer DB, Peterson LC, Svare CW. The contribution of dental amalgam to mercury in blood. *J Dent Res* 68(5):780-785 (1989).

- 496 Solomons NW, Jacob RA. Studies on the bioavailability of zinc in humans. IV. Effect of heme and nonheme iron on the absorption of zinc. *Am J Clin Nutr* 34:475-478 (1981)
- 497 Soria ML, Repetto M. Estado actual de la toxicología del mercurio. En: *Toxicología avanzada*. Repetto M. Ediciones Dáiz de Santos S.A.. Madrid 1995.
- 498 Soriano MJ, De la Guardia M. A comparative study of flame atomic-absorption methods for determination of zinc in serum and blood plasma. *Talanta* 31:347-352 (1984)
- 499 Staessen JA, Lauwerys RR, Ide G, Roels HA, Vyncke G, Amery A. renal function and historical environmental cadmium pollution from zinc smelters. *Lancet* 343:1523-1527 (1994)
- 500 Stanley-Brown EG, Frank JE. Mercury poisoning from application to omphalocele. *JAMA* 216(13):2144-2145 (1971)
- 501 Stoeppler M, Brandt K. Contributions to automated trace analysis. Part V. Determination of cadmium in whole blood and urine by electrothermal atomic-absorption spectrophotometry. *Fresen Z Anal Chem* 300:372-380 (1980)
- 502 Stoeppler M. Recent methodological progress in cadmium analysis. *Int J Environ Anal Chem* 27:231-239 (1986)
- 503 Stopford W, Bundy SD, Goldwater LJ, Birrikof KA. Microenvironmental exposure to mercury vapor. *Am Ind Hyg Assoc J* 39:379-384 (1978)
- 504 Subramanian KS. Determination of lead in blood by graphite furnace atomic absorption spectrometry- a critique. *The Science of the Total Environment* 89:237-250 (1989)
- 505 Suetomi K, Takahashi H, Konishi T. Fractional determination of ionizable and stable forms of inorganic mercury in animal tissue using atomic absorption spectrometry. *Analyst* 116:261-264 (1991).
- 506 Suzuki T, Hongo T, Matsuo N, Imai H, Nakazawa M, Abe T, Yamamura Y, Yoshida M, Aoyama H. An acute mercuric mercury poisoning: chemical speciation of hair mercury shows a peak of inorganic mercury value. *Hum Exp Toxicol* 11:53-57 (1992)
- 507 Suzuki T, Hongo T, Yoshinaga J, Imai H, Nakazawa M, Matsuo N, Akagi H. The hair-organ relationship in mercury concentration in contemporary Japanese. *Arch Environ Health* 48(4):221-229 (1993)
- 508 Suzuki T, Takemoto TI, Shishido S, Kani K. Mercury in human amniotic fluid. *Scand J Work Environ Health* 9:32-35 (1977)
- 509 Svare CW, Peterson LC, Reinhardt JW, Boyer DB, Frank CW, Gay DD, Cox RD. The effect of dental amalgams on mercury levels in expired air. *J Dent Res* 60:1668-1671 (1981)
- 510 Tahán JE, Granadillo VA, Sánchez JM, Cubillán HS, Romero RA. Mineralization of biological materials prior to determination of total mercury by cold vapor atomic absorption spectrometry. *J Anal At Spectrom* 8(7):1003-1010 (1993)
- 511 Tandon SK, Khandelwal S, Jain VK, Mathur N. Influence of dietary iron deficiency on acute metal intoxication. *Biometals* 6(2):133-138 (1993)
- 512 Tao G, Willie SN, Sturgeon RE. Determination of total mercury in biological tissues by flow injection cold vapour generation atomic absorption spectrometry following tetramethylammonium hydroxide digestion. *Analyst* 123(6):1215-1218 (1998)
- 513 Tato Rocha RE, Cardenas Viedma E, Herrero Huerta E. Selenio: Implicaciones fisiopatológicas y clínicas. *Anales de Medicina Interna* 11(9):457- 463 (1994)
- 514 Telisman S, Jurasovic J, Pizent A, Cvitkovic P. Blood pressure in relation to biomarkers of lead, cadmium, copper, zinc, and selenium in men without occupational exposure to metals. *Environ Res* 87(2):57-68 (2001)

- 515 Thomas R. A beginner's guide to ICP-MS. Part I. *Spectroscopy* 16(4):38-42 (2001)
- 516 Thomas R. A beginner's guide to ICP-MS. Part II. The sample-introduction system *Spectroscopy* 16(5):56-60 (2001)
- 517 Thomas R. A beginner's guide to ICP-MS. Part III. The plasma source. *Spectroscopy* 16(6):26-30 (2001)
- 518 Thomas R. A beginner's guide to ICP-MS. Part IV. The interface region. *Spectroscopy* 16(7):26-28 (2001)
- 519 Thomas R. A beginner's guide to ICP-MS. Part IX. Collision/Reaction cell technology. *Spectroscopy* 17(2):42-48 (2002)
- 520 Thomas R. A beginner's guide to ICP-MS. Part V. The ion focusing system. *Spectroscopy* 16(9):38-44 (2001)
- 521 Thomas R. A beginner's guide to ICP-MS. Part VI. The mass analyzer. *Spectroscopy* 16(10):44-48 (2001)
- 522 Thomas R. A beginner's guide to ICP-MS. Part VIII. Mass analyzers: Time-of-flight technology. *Spectroscopy* 17(1):36-41 (2002)
- 523 Thomson CD, Smith TE, Butler KA, Packer MA. An evaluation of urinary measures of iodine and selenium status. *J Trace Elements Med Biol* 10(4):214-222 (1996).
- 524 Tonks DB. Cadmio. En: Kaplan, Pesce. *Química Clínica: Teoría, análisis y correlación*. Ed: Panamericana (1986) pp 358-374
- 525 Travis D, Haddock A. Interpretation of the observed age-dependency of cadmium body burdens in man. *Environmental Research* 22:46-60 (1980)
- 526 Trepka MJ, Heinrich J, Krause C, Schulz C, Wjst M, Popescu M, Wichmann HE. Factors affecting internal mercury burdens among Eastern German children. *Archives of environmental health* 52(2):134-138 (1997).
- 527 Turnlund JR. Copper. En: Shils ME, Olson JA, Shike M. *Modern nutrition in health and disease*. Lea & Febiger. Malvern.EE.UU. 8ª Edición (1994) pp 231-241
- 528 Tutunji MF. Determination of mercury in biological fluids by potentiometric stripping analysis. *Fresenius J Anal Chem* 356:90-95 (1996).
- 529 U.S. DHHS (Department of Health and Human Services), ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological Profile for Mercury (update) TP-9393/10, Atlanta, GA (1994)
- 530 U.S. Environmental Protection Agency (EPA). Office of Air Quality Planning and Standards. Mercury and Compounds. Diciembre 1994 <http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/mercury.html>
- 531 U.S. Public Health Service & Department of Health and Human Services. dental amalgam: A scientific review and recommended Public Health Service strategy for research, education and regulation. Washington DC. US DHHS (1993)
- 532 Ulfarson U. Distribution and excretion of some mercury compounds after long term exposure. *Int Arch Gewerbepath Gewerbehyg* 19:412 (1962)
- 533 Vahter M, Berglund M, Nermell B, Akesson A. Bioavailability of cadmium from shellfish and mixed diet in women. *Toxicology and Applied Pharmacology* 136:332-341 (1996)
- 534 Vallee BL, Falkchuk KH. The biochemical basis of the zinc physiology. *Physiological Reviews* 73:79-118 (1993)
- 535 Valls O. Espectrometría de masas. En: Valls O, Del Castillo B. *Técnicas Instrumentales en Farmacia y Ciencias de la Salud*. Ed. Piro (1998).

- 536 Verity MA, Brown WJ. Hg²⁺ induced kidney necrosis: Subcelular localisation and structure-linked lysosomal enzyme changes. *Am J Path* 61:57 (1970)
- 537 Verlinden M, Van Sprundel M, Van der Auwera JC, Eylembosch WJ. The selenium status of Belgian population groups. I Healthy adults. *Biol Trace Element Res* 5:91-102 (1983)
- 538 Vermeir G, Vandecasteele, Dams R. Atomic fluorescence spectrometry combined with reduction for the determination of mercury in biological samples. *Analytica Chimica Acta* 242:203-208 (1991).
- 539 Villanueva Cañadas E. Plomo. En: Medicina Legal y Toxicología. Gisbert Calabuig JA. Masson SA, Barcelona, 5ª Edición 1998.
- 540 Vimy MJ, Lorscheider FL. Intra-oral air mercury released from dental amalgam. *J Dent Res* 64(8):1069-1071 (1985)
- 541 Vimy MJ, Lorscheider FL. Serial measurements of intra-oral air mercury: estimation of daily dose from dental amalgam. *J Dent Res* 64(8):1072-1075 (1985)
- 542 Vimy MJ, Luft AJ, Lorscheider FL. Estimation of mercury body burden from dental amalgam: Computer simulation of a metabolic compartmental model. *J Dent Res* 65(12):1415-1419 (1986)
- 543 Vitoux D, Arnaud J, Chappuis P. Are copper, zinc and selenium in erythrocytes valuable biological indexes of nutrition and pathology? *J Trace Elements med Biol.* 13:113-128 (1999)
- 544 Vivoli G, Borella P, Bergomi M, Fantuzzi G. Zinc and copper levels in serum, urine, and hair of humans in relation to blood pressure. *Sci Total Environ* 66:55-64 (1987)
- 545 Vokac Z, Gundersen N, Magnus P, Jebens E, Bakka T. Circadian rhythmicity of the urinary excretion of mercury, potassium and catecholamines in unconventional shift-work systems. *Scand J Work Environ Health* 6:188-196 (1980)
- 546 Waalkes MP. Cadmium carcinogenesis in review. *Journal of Inorganic Biochemistry* 79:241-244 (2000)
- 547 Wallach J. Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio. Editorial Masson SA. Barcelona 3ª Edición 1998. pp 1064-1065
- 548 Wallingford Health hazard evaluation report, Cincinnati, Ohio, NIOSH 7 pp. (HETA 82-364-1243) (1982)
- 549 Wallis G, Barber T. Variability in urinary mercury excretion. *J Occup Med* 24:590-595 (1982)
- 550 Ware RA, Burckholder PH, Chang LW. Ultrastructural changes in renal proximal tubules after chronic organic and inorganic mercury intoxication. *Environ Res* 10:121 (1975)
- 551 Watanabe T, Iwami O, Nakatsuka H, Iguchi H, Ikeda M. Correlation of cadmium, copper, manganese, and zinc levels in the urine of people in nonpolluted areas. *J Toxicol Environ Health* 33(3):263-72 (1991)
- 552 Watanabe T, Nakatsuka H, Tang N, Ikeda M. Zinc levels in urine of female farmers in nonpolluted regions of Japan. *Sci Total Environ* 94(3):169-78 (1990)
- 553 Watras CJ, Bloom NS. Mercury and methylmercury in individual zooplankton: Implications for bioaccumulation. *Limnol Oceanogr* 37:131 (1991)
- 554 Watson WS, Mitchel KG, Lyon TDB, Kerr N. A two-compartment model for zinc in humans. *J Trace Elements Med Biol* 13:141-149 (1999).
- 555 Wedeen RP. Commentary on "Adjustment of creatinine-adjustment value to urine flow rate in lead workers". *Archives of Environmental Health* 51(4):333-334 (1996)
- 556 Weiner JA, Nylander M, Berglund F. Does mercury from amalgam restorations constitute a health hazard? *The Science of the Total Environment* 99:1-22 (1990).

- 557 Weiner JA, Nylander M. An estimation of the uptake of mercury from amalgam fillings based on urinary excretion of mercury in Swedish subjects. *The Science of the Total Environment* 168:255-265 (1995)
- 558 Welz B, Melcher M, Neve J. Determination of selenium in human body fluids by hydride-generation atomic absorption spectrometry – Optimization of a sample decomposition. *An Chim Acta* 165:131-140 (1984)
- 559 Welz B, Melcher M. decomposition of marine biological tissues for determination of arsenic, selenium and mercury using hydride-generation and cold-vapor atomic absorption spectrometries. *Anal Chem* 57(2): 427-431 (1985).
- 560 Welz B, Tsalev D, Sperling M. Online microwave pretreatment for the determination of mercury in water and urine by flow-injection cold-vapor atomic absorption spectrometry. *Anal Chim Acta* 261(1-2):91-103 (1992).
- 561 Welz B, Melcher M, Schlemmer G. Determination of Selenium in Human-Blood Serum: comparison of two Atomic-Absorption Spectrometric Procedures. *Fresenius'Z Anal Chem* 316:271-273 (1983).
- 562 West JB. Best y Taylor: Bases fisiológicas de la práctica médica. Editorial Panamericana. Buenos Aires 11ª Edición (1986)
- 563 Whanger PD, Weswig PH, Schmitz JA, Oldfield JE. Effects of selenium, cadmium, mercury, tellurium, arsenic, silver, and cobalt on White Muscle Disease in lambs and effect of dietary forms of arsenic on its accumulation in tissues. *Nutr Rep Int* 14:63-72 (1976)
- 564 White JF, Rothstein A. The interaction of methylmercury with erythrocytes. *Tox Appl Pharmacol* 26:370 (1973)
- 565 White MA, Sabbioni E. Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European Union. X. A study of 13 elements in blood and urine of a United Kingdom population. *Sci Total Environ.* 216(3):253-270 (1998).
- 566 White MA. A comparison of inductively coupled plasma mass spectrometry with electrothermal atomic absorption spectrophotometry for the determination of trace elements in blood and urine from non occupationally exposed populations. *J Trace Elements Med Biol* 13:93-101 (1999)
- 567 Wide C. Mercury hazards arising from repair sphygmomanometers. *BMJ* 293: 1409 (1986)
- 568 Wilhelm M, Muller F, Idel H. Biological monitoring of mercury vapour exposure by scalp hair analysis in comparison to blood and urine. *Toxicol Lett* 88(1-3):221-226 (1996).
- 569 Wilhelm M, Ohnesorge FK, Lombeck I, Hafner D. Uptake of aluminium, cadmium, copper, lead and zinc by human scalp hair and elution of the adsorbed metals. *Journal of Analytical Toxicology* 13:17-21 (1989).
- 570 Willie SN, Gregoire DC, Sturgeon RE. Determination of inorganic and total mercury in biological tissues by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analyst* 122:751-754 (1997)
- 571 Windisch W. Homeostatic reactions of quantitative Zn metabolism on deficiency and subsequent repletion with Zn in ⁶⁵Zn-labeled adult rats. *Trace Elements and Electrolytes* 18(3):122-128 (2001)
- 572 Winek CL, Fochtman FW, Bricker JD, Wecht CH. Fatal mercury chloride ingestion. *Clin Toxicol* 18(3):261-266 (1981)
- 573 Winfield S, Boyd N, Vimy MJ, Lorscheider FL. Measurement of total mercury in biological specimens by cold vapor atomic fluorescence spectrometry. *Clinical Chemistry* 40(2):206-210 (1994).

- 574 Wisniewska JM, Trojanowska B, Piotrowski J, Jakubowski M. Binding of mercury in the rat kidney by metallothionein. *Toxicol Appl Pharmacol* 16(3):754-63. (1970)
- 575 Yang G, Wang S, Zhou R, Sun S. Endemic selenium intoxication of humans in China. *Am J Clin Nutr* 37:872-881 (1983)
- 576 Yang YJ, Huang CC, Shih TS, Yang SS. Chronic elemental mercury intoxication: clinical and field studies in lampsocket manufacturers. *Occup Environ Med* 51(4):267-270 (1994)
- 577 Yen CC, Chen WK, Wang CP, You JN, You WC, Yu JJ, Lee YJ, Chung C, Kuo SC. Selenium determination in serum by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *J Chin Chem Soc* 44(6):585-590 (1997)
- 578 Yip R, Reeves JD, Lonnerdal B, Keen CL, Dallman PR. Does iron supplementation compromise zinc nutrition in health infants? *Am J Clin Nutr* 42:683-687 (1985)
- 579 Yoshida M, Yamamura Y. Elemental mercury in urine from workers exposed to mercury vapor. *Int Arch Occup Environ Health* 51:99 (1982)
- 580 Yoshida M. Relation of mercury exposure to elemental mercury levels in the urine and blood. *Scand J Work Environ Health* 11:33-37 (1985)
- 581 Zapatero MD, García de Jalón A. Mercurio. En: *Análisis de Elementos traza: aspectos bioquímicos, analíticos y clínicos*. Cocho JA, Escanero JF, González de Buitrago JM. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular 1998. Pp 559-570
- 582 Zhang ZW, Shimbo S, Ochi N et al. Determination of lead and cadmium in food and blood by inductively coupled plasma mass spectrometry: a comparison with graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Sci Total Environ* 205:179-187 (1997)
- 583 Zimmer J, Grange F, Straub P, Haegy JM, Guillaume JC. Erytème mercuriel après exposition accidentelle à des vapeurs de mercure. *Ann Med Interne* 148(4):317-320 (1997).
- 584 Zong YY, Parsons PJ, Slavin W. *Spectrochim Acta Part B* 53B:1031-1039 (1998)

ANEXOS

ANEXO I. CONVERSIONES ENTRE UNIDADES INTERNACIONALES Y CONVENCIONALES.**Cd**

sangre: $1 \mu\text{g/L} = 8,895926 \text{ nmol/L}$
 $1 \text{ nmol/L} = 0,112411 \mu\text{g/L}$

orina: $1 \mu\text{g/g CR} = 1,0063 \text{ nmol/mmol CR} = \mu\text{mol/mol CR}$
 $1 \text{ nmol/mmol CR} = 0,9937 \mu\text{g/g CR}$

Creatinina

$1 \text{ g CR} = 8,840 \text{ mmol CR}$
 $1 \mu\text{g/g CR} = 1/8,840 \mu\text{g/mmol CR} = 0,113 \mu\text{g/mmol CR}$
 $1 \mu\text{g/mmol CR} = 8,840 \mu\text{g/g CR}$

Cu

suero: $1 \mu\text{g/dL} = 0,1574 \mu\text{mol/L}$
 $1 \mu\text{mol/L} = 6,3546 \mu\text{g/dL}$

orina: $1 \mu\text{g/g CR} = 1,7801 \text{ nmol/mmol CR} = \mu\text{mol/mol CR}$
 $1 \text{ nmol/mmol CR} = 0,5617 \mu\text{g/g CR}$

Hg

sangre: $1 \mu\text{g Hg} = 4,9853 \text{ nmol Hg}$
 $1 \text{ nmol} = 0,20059 \mu\text{g Hg}$

orina: $1 \mu\text{g Hg/g CR} = 0,56395 \text{ nmol Hg/mmol CR} = \mu\text{mol/mol CR}$
 $1 \text{ nmol Hg/mmol CR} = 1,7732 \mu\text{g Hg/g CR}$

Pb

sangre: $1 \mu\text{g/dL} = 0,04826 \mu\text{mol/L}$
 $1 \mu\text{mol/L} = 20,72 \mu\text{g/dL}$

orina: $1 \mu\text{g/g CR} = 0,5459 \text{ nmol/mmol CR} = \mu\text{mol/mol CR}$
 $1 \text{ nmol/mmol CR} = 1,8317 \mu\text{g/g CR}$

Se

sangre: $1 \mu\text{g/L} = 0,01266 \mu\text{mol/L}$
 $1 \mu\text{mol/L} = 78,96 \mu\text{g/L}$

orina: $1 \mu\text{g/g CR} = 1,4326 \text{ nmol/mmol CR} = \mu\text{mol/mol CR}$
 $1 \text{ nmol/mmol CR} = 0,6980 \mu\text{g/g CR}$

Zn

suero: $1 \mu\text{g/dL} = 0,1529 \mu\text{mol/L}$
 $1 \mu\text{mol/L} = 6,539 \mu\text{g/dL}$

orina: $1 \mu\text{g/g CR} = 1,7300 \text{ nmol/mmol CR} = \mu\text{mol/mol CR}$
 $1 \text{ nmol/mmol CR} = 0,5780 \mu\text{g/g CR}$

ANEXO II. ABREVIATURAS

AAS	Espectroscopía de absorción atómica
ACGIH	Asociación Americana Gubernamental de Higienistas Industriales
ADR	Aporte Dietético Recomendado
ALAD	Deshidrasa del ácido delta aminolevulínico en sangre
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry de EE.UU
BEI	Índice de exposición biológica de la ACGIH
CVAAS	Espectrofotometría de absorción atómica por vapor frío (Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry)
CR	Creatinina
DMPS	Sulfonato de dimecaptopropano
ETAAS	Espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica.
FAAS	Espectroscopía de absorción atómica con atomización de llama
GHS	Glutation
GPx	Glutation Peroxidasa
HBM	Valores para la monitorización biológica humana de la Agencia Federal de Medioambiente de Alemania
ICP	Plasma acoplado inductivamente
INSHT	Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo
Lámpara EDL	Lámpara de descarga sin electrodos
Lámpara HCL	Lámpara de cátodo hueco
MT	Metalotioneína
NAA	Activación neutrónica
NAG	N-acetil-glucosaminidasa
NIOSH	Instituto Nacional de Salud e Higiene Ocupacional (National Institute for Occupational Safety and Health)
OSHA	Administración para la Seguridad y Salud Ocupacional (EE.UU.) US Department of Labor
PEL	Límite de exposición permitido. Permissive Exposure Limit (NIOSH)
SD	Desviación estándar
SNC	Sistema Nervioso Central
TLV	“Threshold Limit Values”, Valores límites umbral.
TLV-TWA	Límites de exposición o concentraciones medias ponderadas en el tiempo
TLV-STEL	Límites de exposición para cortos periodos de tiempo o concentraciones medias ponderadas para periodos de 15 minutos a las que pueden estar expuestos los trabajadores
VLA-ED	Valor Límite Ambiental Exposición Diaria del INSHT, equivalente a TLV-TWA de la ACGIH.
VLA-EC	Valor Límite Ambiental Exposición Corta del INSHT, equivalente a TLV-STEL de la ACGIH.
VLB	Valor Límite Biológico del INSHT, equivalente a BEI de la ACGIH.